Solubilisation und Stabilisierung von Salicylsäurephenylester durch Tenside sowie Kennzeichnung von Polyäthylenglykolderivaten

Rüdiger Rombach

1967

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546019_0034

Solubilisation und Stabilisierung von Salicylsäurephenylester durch Tenside sowie Kennzeichnung von Polyäthylenglykolderivaten

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Rüdiger Rombach

aus

Ehingen/Donau

1967

Berichterstatter: 1. Professorin Dr. E. ULLMANN

2. Professor Dr. Dr.h.c. E. BAMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 22.II.1967

Dem Andenken

meiner Großmutter

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die experimentellen Untersuchungen zu der vorliegenden Arbeit wurden in der Zeit von Mai 1962 bis März 1966 am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München - Direktor: Professor Dr. Dr.h.c. Eugen BAMANN - unter der Leitung von Frau Professorin Dr. Elsa ULLMANN durchgeführt.

Meiner hochverehrten akademischen Lehrerin sei an dieser Stelle für ihre Anregung zu der Arbeit, besonders aber für die stete Anteilnahme und vielseitige Förderung meiner Untersuchungen von Herzen gedankt.

Zu großem Dank verpflichtet bin ich ebenfalls Herrn Professor Dr. Karl THOMA für seine in reichem Maße gewährte Unterstützung und Hilfe.

Allen meinen akademischen Lehrern, insbesondere Herrn Professor Dr. Dr.h.c. Eugen BAMANN, danke ich für die wohlwollende Förderung meiner Studien.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A.	Einführung	1
B.	Ergebnisse der Untersuchungen	3
I.	Solubilisation und Stabilisierung von Salicylsäurephenylester durch Tenside	3
1.	Untersuchung des Solubilisationsvermögens nichtionogener Tenside	3
2.	Beeinflussung des UV-Spektrums von Salicylsäurephenylester	6
3.	Zur Stabilisierung von Salicylsäurephenylester .	14
a.	Verfolgung der Zersetzung im UV-Spektrum . .	14
b.	Untersuchung der Zersetzungsgeschwindigkeit .	21
c.	Diskussion der Ergebnisse	23
II.	Kennzeichnung von Polyäthylenglykolderivaten . .	26
1.	Nachweis der verschiedenen Verbindungsklassen .	26
2.	Identifizierung der Einzelkomponenten	28
a.	Unterscheidung von freien Polyäthylenglykolanteilen und Tensidkomponenten	28
b.	Nachweis und Differenzierung homologer Polyäthylenglykole	29
c.	Differenzierung der Tensidkomponenten	31
3.	Identifizierung von Gemischen verschiedener Polyäthylenglykol-Stearate	33
4.	Nachweis von Polyäthylenglykolderivaten und Polyäthylenglykolen in Arzneizubereitungen	36

Seite

C. Experimenteller Teil 37

I. Nachweis und Bestimmung von Salicylsäure, Phenol und Salicylsäurephenylester in Anwesenheit von Lösungsvermittlern 37

1. Chromatographische Differenzierung 37

a. Beeinflussung der Rf-Werte durch pharmazeutische Hilfsstoffe 37

b. Abtrennung des Lösungsvermittlers und Nachweis der Arzneistoffe 39

2. Quantitative Bestimmung der Arzneistoffe 45

a. Methodik 45

b. Diskussion 47

II. Spektralphotometrische Untersuchungen von Salicylsäurephenylester in Gegenwart von Mizellbildnern 49

1. Beeinflussung des Absorptionsspektrums 50

2. Auswirkung der Zersetzung des Arzneistoffes . . 54

III. Untersuchung der Stabilität von Salicylsäurephenylester in Gegenwart von Polyäthylenglykol-1400-stearyläther 57

1. Voraussetzungen 57

2. Zersetzungsgeschwindigkeit 58

IV. Ermittlung des Solubilisationsvermögens von nichtionogenen Tensiden 61

V. Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration (c_k) 66

Seite

VI. Dünnschichtchromatographische Untersuchung von Polyäthylenglykolderivaten und Polyäthylenglykolen 71

1. Durchführung 71

a. Beschichtung der Dünnschichtplatten 71
b. Auftragung 71
c. Entwicklung 72
d. Identifizierung 73
e. Alkalische Spaltung von Polyäthylenglykol-Estern 74

2. Untersuchungen zur Arbeitsmethodik, Beispiele für ihre Anwendung 74

a. Durchlaufzeit 74
b. Identifizierung 74
c. Alkalische Hydrolyse 74
d. Identifizierung von Polyäthylenglykolen in Polyäthylenglykolderivaten 81

3. Chromatographisches Verhalten in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der mobilen Phase . . . 81

a. Phenolderivate 81
b. Polyäthylenglykole 82
c. Polyäthylenglykolderivate 85

D. Zusammenfassung 89

E. Literaturverzeichnis 91

A. Einführung

Die Frage der Arzneistoffstabilität besitzt für die Arzneiformung große Bedeutung. Die Herstellung von Arzneimitteln in großem Maßstab und ihre zwangsläufige Lagerung sowie die Instabilität vieler Arzneistoffe erfordern eine sorgfältige Auswahl der Träger- und Hilfsstoffe. Durch ihre besonderen physikalisch-chemischen Eigenschaften - Fähigkeit zur Mizellbildung und Lösungsvermittlung - ist grenzflächenaktiven Stoffen auch in dieser Hinsicht Beachtung zu schenken.

Die Möglichkeit der Beeinflussung der Stabilität durch Tenside hat bisher im Bereich der Arzneiformung kaum Berücksichtigung gefunden. Aus der Literatur geht hervor, daß einige ionogene und nichtionogene Tenside die Geschwindigkeit der alkalischen Hydrolyse verschiedener hydrophiler Ester herabsetzen (54, 78, 92). Solche Befunde einer Stabilisierung zersetzlicher Arzneistoffe lassen sich allerdings nicht verallgemeinern, da z.B. unter gewissen Bedingungen oxydative Vorgänge im Mizellkern beschleunigt ablaufen (19, 57, 88).

Wie aus Untersuchungen über die Stabilität von Penicillinen in Anwesenheit von Tensiden (89, 94) hervorgeht, erfahren diese Antibiotica durch Mizellbildner ebenfalls keine Verbesserung, sondern Verminderung ihrer Stabilität.

Für solche Unterschiede sind verschiedene Möglichkeiten der Einlagerung der Wirkstoffe in die Mizelle zu diskutieren, da je nach Struktur und amphiphiler Ausrichtung des Arzneistoffes seine Einbettung in verschiedenartigen Bereichen der Mizelle anzunehmen ist.

Eine wirksame Herabsetzung der Hydrolysegeschwindigkeit von Arzneistoffen ist bei Lokalisierung der instabilen Substanz im Mizellkern zu erwarten. Die vorliegende Arbeit hat daher zum Ziel, an der hydrophoben Modellsubstanz Salicylsäurephenylester das Lösungsvermögen von Tensiden verschiedener lipophiler-hydrophiler Ausrichtung zu untersuchen, um Aufschluß zu erhalten über Beziehungen zwischen Lokalisierung und Ausmaß der Stabilisierung des Solubilisates in der Mizelle. Bei der Solubilisation aufgefundene Gesetzmäßigkeiten sowie spektralphotometrische Untersuchungen über Wechselwirkungen zwischen Mizellbildner und Arzneistoff erlauben Aussagen über die Art seiner Verankerung in der Mizelle. Gleichzeitig liefern sie die Erklärung für Ergebnisse von Stabilitätsuntersuchungen in Gegenwart von Tensiden.

Eine weitere Fragestellung der Arbeit betrifft die Analyse der Polyäthylenglykolderivate, welchen im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen besondere Bedeutung zukommt. Auf Grund ihrer technischen Herstellung sind diese von uneinheitlicher Zusammensetzung und bedürfen für ihre pharmazeutische Verwendung einer Normierung. Zielsetzung der Untersuchung dieser Tenside ist es, mit Hilfe einfacher Methoden die Vielzahl homologer Strukturen nicht nur aufzutrennen, sondern auch näher zu kennzeichnen sowie nach Verbindungsklassen zu ordnen.

B. Ergebnisse der Untersuchungen

I. Solubilisation und Stabilisierung von Salicylsäurephenylester durch Tenside

1. Untersuchung des Solubilisationsvermögens nichtionogener Tenside

Führt man die Lösungsvermittlung eines hydrophoben Arzneistoffes mit Tensiden verschiedener amphiphiler Ausrichtung jeweils bis zur Sättigungskonzentration des Solubilisates durch, so ergeben sich Hinweise für seine Lokalisation in der Tensidmizelle.

Die Untersuchungen verfolgen die Sättigungskonzentration von Salicylsäurephenylester in Anwesenheit von Polyäthylenglykolderivaten. Diese gestatten sowohl Variation des hydrophilen Polyäthylenglykolanteils (20 bis 107 Äthylenoxideinheiten) als auch Veränderung der hydrophoben Kohlenwasserstoffkette (C_{12} bis C_{18}).

Tab. 1 faßt die Ergebnisse der Solubilisationsversuche zusammen. Diese gestatten folgende Auswertung: Bei konstantem Fettsäureanteil (C_{18}) verursacht Verlängerung der hydrophilen Polyäthylenglykolkette Verminderung des Solubilisationsvermögens der Polyäthylenglykol-Ester (Tab. 1, S_1). Dagegen ist bei den Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonoestern mit wachsendem hydrophobem Anteil (Übergang von Laurat über Palmitat zum Stearat) zunehmende Löslichkeit des Salicylsäurephenylesters zu verzeichnen. Die Einführung einer Doppelbindung in die Fettsäurekette erhöht das Lösungsvermögen für den Arzneistoff nochmals sehr deutlich, wie der Vergleich von Stearinsäure- und Ölsäurederivat zeigt.

Die beschriebenen Veränderungen des Lösungsvermögens bei Variation der amphiphilen Eigenschaften der nichtionoge-

Art der Polyäthylenglykolderivate			lösungsvermögen gegenüber Salicylsäurephenylester bei 20°C			
PÄG verestert (veräthert) mit	Mol.-Gew. Ester	Mol.-Gew. PÄG-Anteil	mg % Ester in 5 % Tensidlösung (S_1)	Mol Ester / Mol Tensid (S_4/T_2)	Mol Ester / Äquivalent Äthylenoxid (S_4/T_4)	Mol Ester / Äquivalent $-CH_2-$ der Fettsäurekette (S_4/T_4)
Stearinsäure	1180	900	509	0,56	$2,79 \cdot 10^{-2}$	
Stearinsäure	1630	1350	432	0,65	$2,21 \cdot 10^{-2}$	
Stearinsäure	2080	1800	386	0,75	$1,86 \cdot 10^{-2}$	
Stearinsäure	2280	2000	337	0,71	$1,54 \cdot 10^{-2}$	
Stearinsäure	4980	4700	147	0,68	$0,63 \cdot 10^{-2}$	
Sorbitanmonolaurat	1270	900	370	0,43		$3,91 \cdot 10^{-2}$
Sorbitanmonopalmitat	1325	900	497	0,61		$4,05 \cdot 10^{-2}$
Sorbitanmonostearat	1355	900	595	0,75		$4,39 \cdot 10^{-2}$
Sorbitanmonooleat	1350	900	876	1,10		$6,53 \cdot 10^{-2}$

Tab. 1 Abhängigkeit des Solubilisationsvermögens von den hydrophilen und lipophilen Komponenten nichtionogener Tenside

nen Tenside werden bei Berücksichtigung der molaren Verhältnisse noch deutlicher. Die spezifischen molaren Löslichkeitsquotienten ermöglichen quantitative Aussagen über die Abhängigkeit der Solubilisation einerseits vom Polyäthylenglykolanteil und andererseits von der Fettsäurekettenlänge im Tensidmolekül.

So bleibt bei Variation der Polyäthylenglykolkomponente im Tensidmolekül das Solubilisationsvermögen je Mol Polyäthylenglykol-Stearat (S_4/T_2) trotz Verlängerung der Äthylenoxidkette praktisch gleich. Durch Umrechnung auf je 1 Äthylenoxideinheit (S_4/T_4) zeigt sich mit zunehmender Kettenlänge deutliche Abnahme des Lösungsvermögens. Dagegen läßt sich bei Verlängerung der Fettsäurekette (Polyäthylenglykol-Sorbitanmonoester) konstante Zunahme des molaren Solubilisationsvermögens (S_4/T_2) und damit Abhängigkeit der Lösungsvermittlung vom hydrophoben Molekülanteil nachweisen. Zu derselben Schlußfolgerung führt die Berechnung des Lösungsvermögens je Äquivalent $-CH_2-$ (S_4/T_4).

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß hydrophobe Arzneistoffe wie Salicylsäurephenylester im Kohlenwasserstoffkern der Mizelle, nicht aber im Polyäthylenglykolanteil lokalisiert sind.

Den Betrachtungen über Lösungsvermittlung durch Mizelleinschluß liegt das Modell der mizellaren Pseudophase zugrunde. Deshalb werden vielfach die Gesetzmäßigkeiten der mizellaren Solubilisation auch durch Berechnung eines Verteilungskoeffizienten (dem Quotienten S_4/T_2 proportional) gekennzeichnet (53, 55).

Allerdings ist bei der Interpretation der Löslichkeitsquotienten in Abhängigkeit von Polyäthylenglykol- und Fettsäurekettenlänge in Betracht zu ziehen, daß Veränderungen im Tensidmolekül die Struktur und damit auch die Aufnahmefähigkeit der Mizelle beeinflussen können (4, 76, 91).

Die nachfolgenden Untersuchungen über die Einwirkung der Mizellbildner auf das UV-Spektrum des hydrophoben Esters ermöglichen es, die Vorstellungen über die Lokalisierung des Solubilisates in der Tensidmizelle durch weitere experimentelle Befunde abzusichern.

2. Beeinflussung des UV-Spektrums von Salicylsäurephenylester

Das Absorptionsspektrum einer Substanz im ultravioletten Bereich unterliegt verschiedenartigen Einflüssen (79). Veränderungen sind beispielsweise möglich durch einen Wechsel der physikalisch-chemischen Eigenschaften des Lösungsmittels (Solvatochromie) (42, 80, 85). Auch der Einschluß in eine Mizelle kann als ein Lösungsmitteleffekt gedeutet werden (10). Der Vergleich der Spektren eines Stoffes in Wasser, in organischem Lösungsmittel und in mizellarer Lösung erlaubt Aussagen über seine Lokalisation innerhalb der Mizelle (25, 56, 78, 79, 81).

Bei Solubilisation von Salicylsäurephenylester in der Lösung eines polyäthylenglykolhaltigen Tensides zeigt sich durch steigende Konzentrationen an Mizellbildner Extinktionserhöhung und eine Verschiebung des Maximums bei 305,5 nm zur längeren Wellenlänge hin (Abb. 1). Diese Verschiebung steht in Übereinstimmung mit dem Spektrum von Salicylsäurephenylester in n-Pentan.

Der Übergang von Wasser zu organischen Lösungsmitteln abnehmender Polarität verursacht Extinktionserhöhung und Rotverschiebung von λ_{max} ähnlich wie die Lösungen von Tensiden oberhalb ihrer kritischen Mizellbildungskonzentration (c_k) (Abb. 1 und 2, Tab. 2). Hieraus ist zu schließen, daß Salicylsäurephenylester bei Solubilisation in den unpolaren Bereich der Mizelle eingelagert wird.

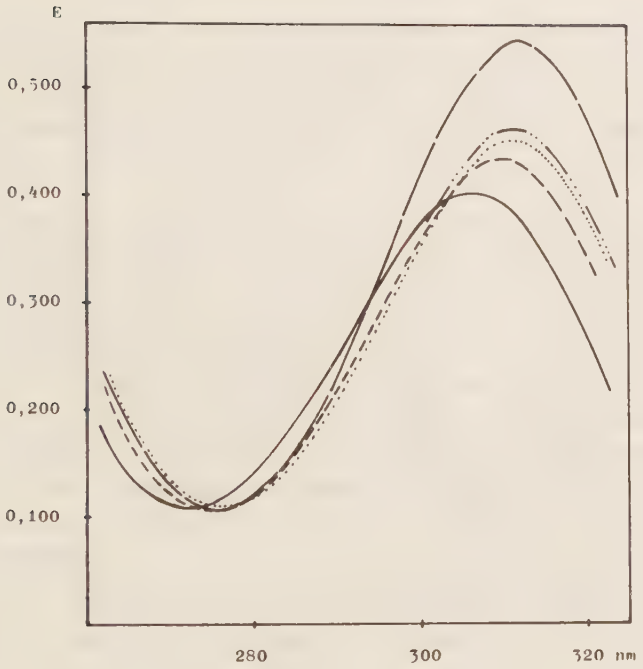


Abb. 1 Verschiebung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester in Abhängigkeit von steigenden Konzentrationen an Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat

———— Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung

- - - - - Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung + 0,05 % PÄG-900-sorbitanmonooleat

····· Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung + 0,5 % PÄG-900-sorbitanmonooleat

——·····—— Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung + 5 % PÄG-900-sorbitanmonooleat

—— —— Salicylsäurephenylester (2,14 mg%) in n-Pentan

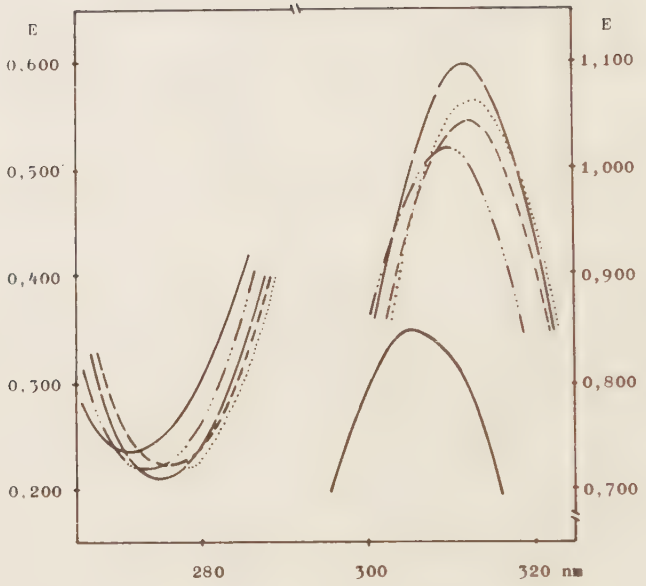


Abb. 2 Auswirkungen der Polarität von Lösungsmitteln auf das Absorptionsspektrum von Salicylsäurephenylester (4,28 mg%)

——— ——— n-Pentan
..... Benzol
- - - - - Chloroform
———...——— Methanol
——————— Wasser

Bemerkenswert ist ferner die Tatsache, daß Salicylsäurephenylester auch in Konzentrationen unterhalb seiner Sättigung in Wasser (2,5 mg% bei 20°C) bevorzugt in die Mizelle aufgenommen wird. Dies bestätigt einen entsprechenden Befund für den hydrophoben p-Methylbenzaldehyd (56).

Verglichen mit Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat zeigen Natriumlaurylsulfat und Cetyl-trimethylammoniumbromid einen ähnlichen, aber weniger ausgeprägten Lösungsmitteleffekt (Abb. 3). Dagegen tritt in Gegenwart von freiem Polyäthylenglykol (Konzentrationen bis 2 %) keine Veränderung des Spektrums von Salicylsäurephenylester ein (Abb. 4). Danach ist also das Vorliegen von Mizellen eine wesentliche Voraussetzung für das Zustandekommen der spektralen Verschiebungen. Methanolische Lösungen von Tensiden zeigen daher keinen Lösungsmitteleffekt im Spektrum von Salicylsäurephenylester.

Das Ausmaß der spektralen Verschiebung in wässerigen Lösungen nimmt mit steigender Konzentration an Mizellbildner zu (Tab. 2). Tensidkonzentrationen unterhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration bewirken nur minimale Veränderungen des Spektrums von Salicylsäurephenylester (Abb. 25).

Da Wasserstoffbrücken und andere Komplexbildungen Veränderungen in der Lage des Maximums und der Feinstruktur eines Absorptionsspektrums verursachen können (25, 95), ist zu entscheiden, ob die beobachteten Effekte als Komplexbildung zwischen dem aciden Wasserstoff der Phenolgruppe und Äthersauerstoffen der Äthylenoxidkette oder als Lösungsmitteleffekte zu deuten sind. Vergleichbare neuere Arbeiten über Lösungsvermittlung vermeiden eine eindeutige Interpretation (12, 15, 24, 55, 74). Für die Solubilisation von Benzoesäure im Grenzbereich zwischen Mizellkern und Polyäthylenglykolhülle konnte spektralphotometrisch nachgewie-

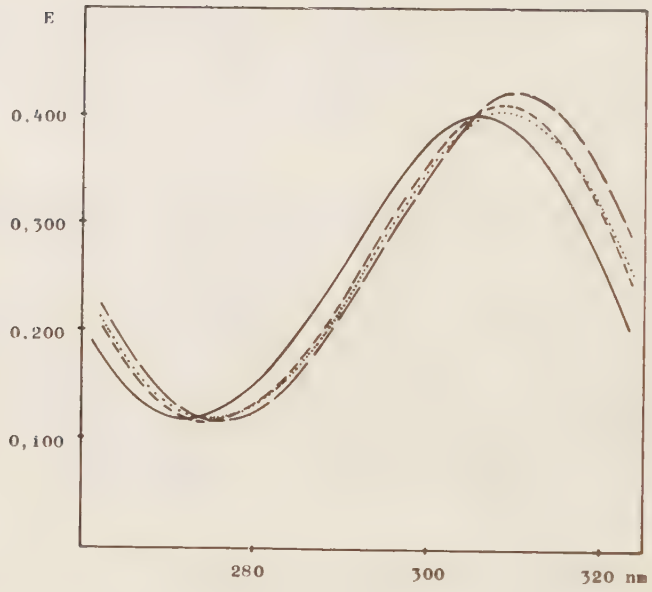


Abb. 3 Verschiebung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester unter dem Einfluß von ionogenen Mizellbildnern

———— Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung

—— —— Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung + 0,5 % PÄG-900-sorbitanmonooleat

- - - - - Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung + 0,5 % Natriumlaurylsulfat

..... Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung + 0,5 % Cetyl-trimethylammoniumbromid

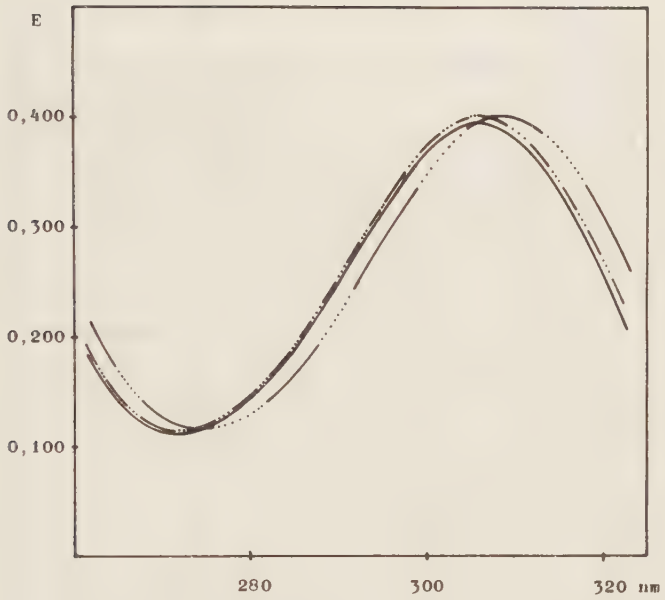


Abb. 4 Verschiebung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester unter dem Einfluß von Polyäthylenglykol 1000

———— Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung

——·••—— Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung + 0,05 % PÄG 1000

————···· Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung + 0,05 % PÄG-900-stearat

PÄG verestert (verätherт) mit	Mol.-Gew.des PÄG-Anteils	c_k +)	Absorptionsmaximum von Salicylsäurephenylester (in nm)									
Hilfsstoff in %			0	0,0036	0,005	0,01	0,05	0,5	2	5	10	25
Stearinsäure	900	0,016 %	305,5		306	307	309	310	310	311		
Stearinsäure	4700	0,010 %	305,5					309				
Sorbitanmonostearat	900	0,006 %	305,5					310				
Sorbitanmonooleat	900	0,005 %	305,5	306	306,5		309	310		310	311	
Laurylalkohol	1000	0,011 %	305,5					309,5				
Stearylalkohol	1400	0,017 %	305,5		306	307	308	310				
-	1000	-	305,5		305,5			305,5	305,5		306	307
Natriumlaurylsulfat		0,25 %	305,5		306		306	308	308			
Cetyl-trimethylammoniumbromid		0,033 %	305,5		306		307	308,5	309			

Tab. 2 Einfluß von Mizellbildnern und Polyäthylenglykol auf die Lage eines Absorptionsmaximums von Salicylsäurephenylester

+) c_k-Werte (2,78); Polyäthylenglykol-1400-stearyläther siehe S.57

sen werden, daß eine Verankerung durch Wasserstoffbrückenbindung erfolgt (25).

Im Falle des Salicylsäurephenylesters weisen die vorliegenden spektralphotometrischen Befunde darauf hin, daß Komplexbildung zwischen Äthersauerstoff und Tensid nicht als Ursache für die spektralen Verschiebungen anzusehen ist. Aus dem Fehlen von Feinstruktur in organischen Lösungsmitteln (Abb. 2) ist zu folgern, daß die phenolische Hydroxylgruppe durch eine intramolekulare Wasserstoffbrücke (3) weitgehend blockiert ist. Wird ein Einbau des Esters in den kohlenwasserstoffartigen Mizellkern angenommen, so erscheint eine Komplexbildung wegen der räumlichen Trennung von Phenolkörper und Äthersauerstoff kaum möglich. Obgleich in Gegenwart von Tensiden unterhalb ihrer c_k und in Anwesenheit von niederen Konzentrationen an freiem Polyäthylenglykol keine deutlichen spektralen Verschiebungen erkennbar sind (Abb. 4 und 25, Tab. 2), läßt sich eine Reaktion vor der Aufnahme in die Mizelle nicht völlig ausschließen.

Spektrale Verschiebungen in Gegenwart von 10 % und 25 % an freiem Polyäthylenglykol sind als Lösungsmitteleffekte zu deuten (78).

Die Veränderungen im Spektrum von Salicylsäurephenylester sind bei Solubilisation durch nichtionogene Tenside stärker als bei Einsatz ionogener Tenside (Abb.3, Tab.2). Diese Feststellung steht im Gegensatz zu den Beobachtungen an p-Aminobenzoesäureäthylester, für welchen bei allen Tensidtypen ein Einbau in die Außenbereiche der Mizelle angenommen wird (78). Aus beiden Befunden läßt sich ableiten, daß der hydrophobe Salicylsäurephenylester bei Vorliegen ionogener Mizellen nicht tief im Kohlenwasserstoffkern fixiert ist.

Die Lokalisation des Salicylsäurephenylesters in den Mizellen von ionogenen und nichtionogenen Tensiden erlaubt Rückschlüsse auf das Ausmaß der Beeinflussung der Esterhydrolyse.

3. Zur Stabilisierung von Salicylsäurephenylester

a. Verfolgung der Zersetzung im UV-Spektrum

Die Untersuchung von Veränderungen im UV-Spektrum einer instabilen Substanz gibt wertvolle Anhaltspunkte für den Ablauf der Zersetzungsreaktion, wenn die Abbauprodukte selbst ausgeprägte Absorptionsspektren besitzen, welche sich von dem der Ausgangssubstanz unterscheiden (16, 72).

Da sowohl Salicylsäurephenylester wie auch Salicylsäure und Phenol im Bereich von 250 bis 320 nm charakteristische Maxima zeigen (Abb. 5), ist es möglich, aus der Veränderung dieser Spektren qualitative und halbquantitative Aussagen über die Hydrolyse von Salicylsäurephenylester und deren Beeinflussung durch Tenside und andere Hilfsstoffe zu gewinnen.

Wie aus Abb. 6 hervorgeht, wird im Spektrum des Salicylsäurephenylesters das Maximum bei 305 ⟶ 311 nm im Verlauf der Zersetzung abgebaut. An seine Stelle tritt ein Maximum, welches Salicylation charakterisiert (296 nm, siehe Abb. 5). Bei vollständiger Hydrolyse des Salicylsäurephenylesters bildet sich ferner eine Schulter (bei 270 nm) und ein neues Maximum (bei 277 nm) aus.

Im Verlauf einer mehrwöchigen Lagerung bei 20°C und unter Lichtabschluß machen sich nach 10 Tagen Sekundärreaktionen bemerkbar, welche durch Abbau des Maximums bei 296 nm und durch Verschwinden des isosbestischen Punktes bei 263 ⟶ 266 nm in Erscheinung treten. Die Lage der neu gebildeten Schulter bei 270 nm und des Maximums bei 277 nm ändert sich dabei nicht (Abb. 7).

Für diese Sekundärreaktionen ergeben sich aus den Spektren der beteiligten Stoffe (Abb. 5) keine befriedigenden Erklärungen. Neben Salicylsäure (Abbau des Maximums bei 296 nm) ist möglicherweise auch Salicylsäurephenylester beteiligt. Dessen Spektrum wird in Lösungen von Polyäthylenglykolderivaten oberhalb ihrer c_k deutlich verändert (Abb.9). Hydrolyse tritt dabei aber nur in sehr geringem Maße ein.

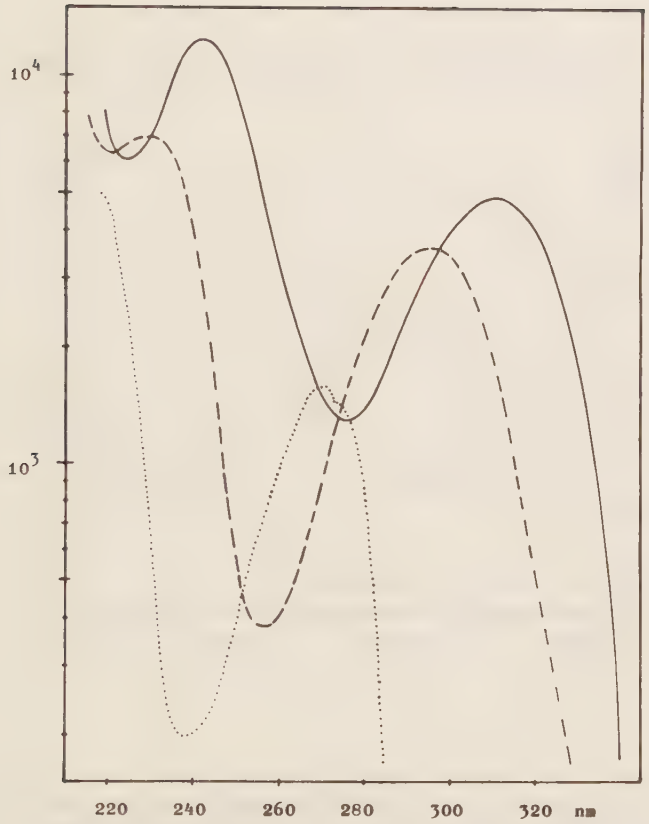


Abb. 5 Absorptionsspektrum von Salicylsäurephenylester, Salicylsäure und Phenol in 0,066 m Phosphatpuffer pH 7,0 und in Gegenwart von 0,5 % Polyäthylenglykol-1400-stearyläther

——————— Salicylsäurephenylester
- - - - - - Salicylsäure
..... Phenol

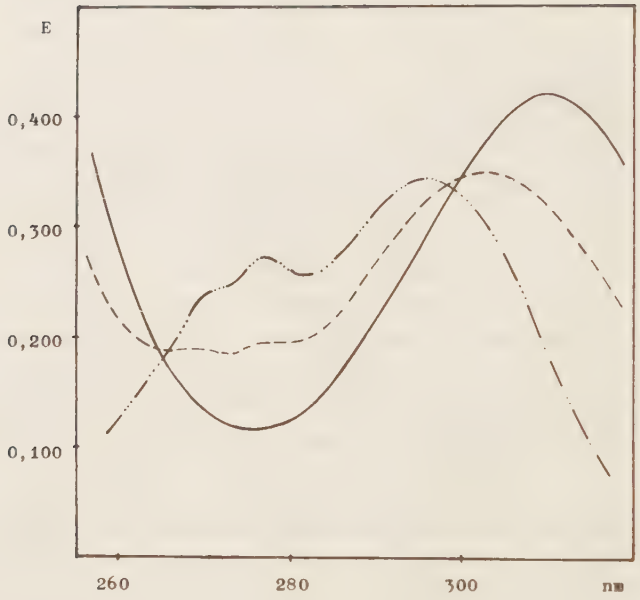


Abb. 6 Veränderung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester während der Hydrolyse (2 mg% Salicylsäurephenylester, 0,5 % Polyäthylenglykol-1400-stearyläther, 0,066 m Phosphatpuffer pH 7,0)

———— unzersetzter Salicylsäurephenylester
- - - - - 50 %ige Zersetzung +)
—— —— 100 %ige Zersetzung +), ++)

+) Modellmischungen aus Salicylsäurephenylester, Salicylsäure und Phenol

++) Die Spektren von Salicylsäure und Phenol werden im Gegensatz zu dem des Salicylsäurephenylesters bei Anwesenheit von Tensiden kaum durch Lösungsmitteleffekte beeinflußt.

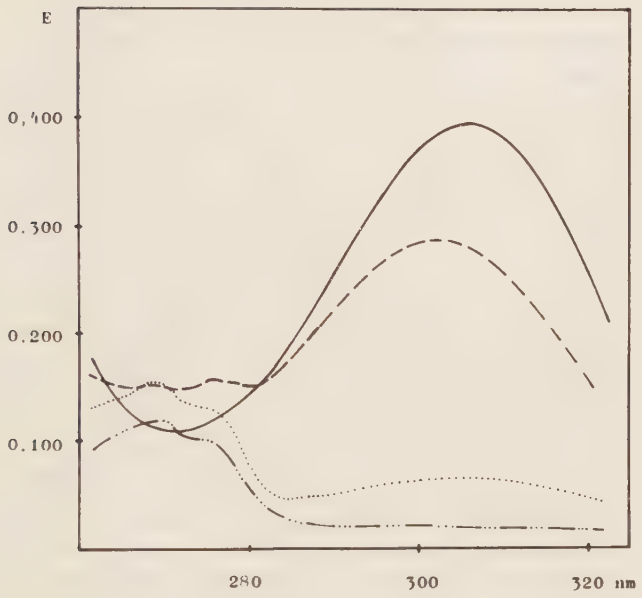


Abb. 7 Veränderung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester in Abhängigkeit von der Lagerungszeit (2 mg% Salicylsäurephenylester, 0,066 m Phosphatpuffer pH 7,0)

———— am Tage der Herstellung
- - - - - nach 10 Tagen
..... nach 30 Tagen
——...—— nach 63 Tagen

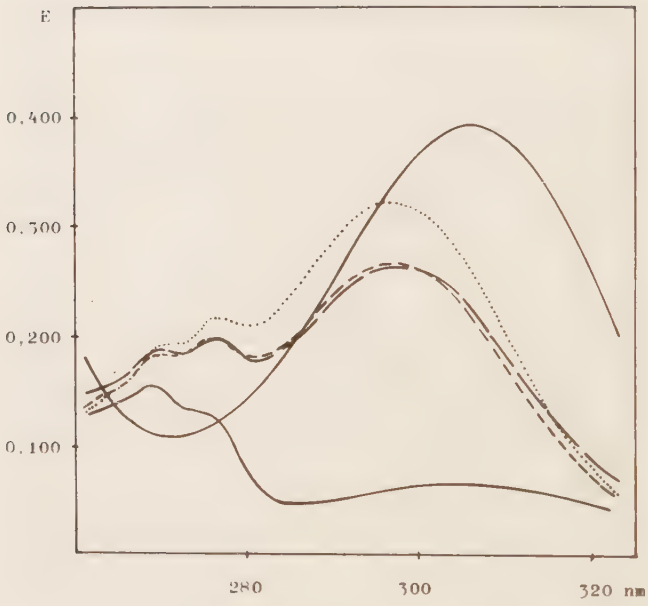


Abb. 8 Veränderung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester während einmonatiger Lagerung (2 mg% Salicylsäurephenylester, 0,005 % Mizellbildner, 0,066 m Phosphatpuffer pH 7,0)

—— —— Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat

- - - - - Natriumlaurylsulfat

..... Cetyl-trimethylammoniumbromid

———— tensidfreie Lösung am Tage der Herstellung und nach 30 Tagen zum Vergleich

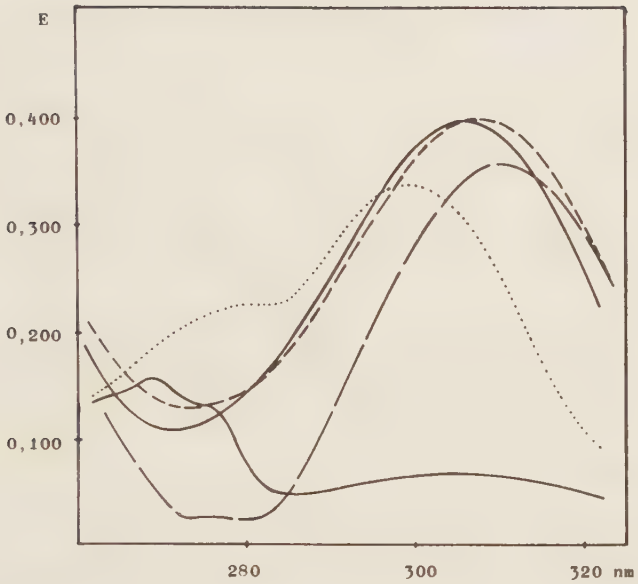


Abb. 9 Veränderung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester während einmonatiger Lagerung (2 mg% Salicylsäurephenylester, 0,5 % Mizellbildner, 0,066 m Phosphatpuffer pH 7,0)

—— —— Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat
- - - - - Natriumlaurylsulfat
..... Cetyl-trimethylammoniumbromid
———— tensidfreie Lösung am Tage der Herstellung und nach 30 Tagen zum Vergleich

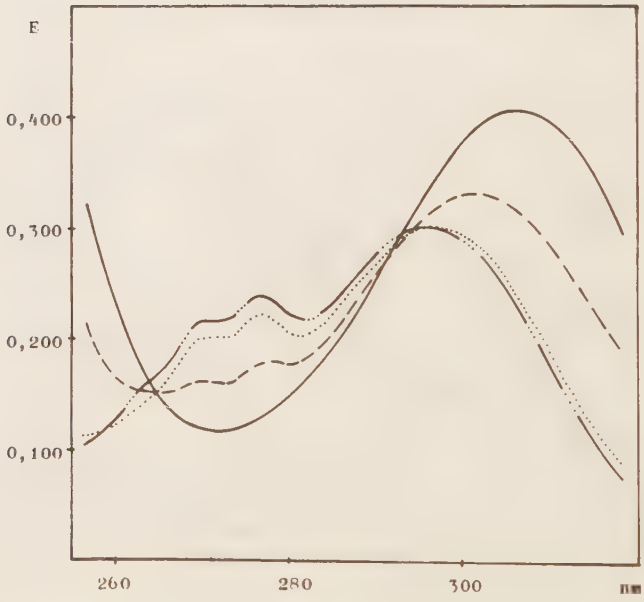


Abb. 10 Veränderung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer (2 mg% Salicylsäurephenylester, 2 % Polyäthylenglykol 1000, 0,066 m Phosphatpuffer pH 7,0)

———— am Tage der Herstellung
- - - - - nach 10 Tagen
..... nach 30 Tagen
___...___ nach 63 Tagen

Die Beeinflussung der Hydrolyse von Salicylsäurephenylester durch anionische und nichtionische Tenside ist abhängig von deren Konzentration. Unterhalb der c_k wird die Hydrolyse kaum gehemmt (Abb. 8). Oberhalb der c_k wirken sich Natriumlaurylsulfat in großem und Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat in etwas geringerem Maße stabilisierend aus. Dagegen erfolgt durch Cetyl-trimethylammoniumbromid auch oberhalb der c_k keine Verzögerung der Zersetzungsgeschwindigkeit (Abb. 9). Ebenso übt freies Polyäthylenglykol keinen Einfluß auf die Hydrolyse des Esters aus (Abb. 10).

Die deutliche Stabilisierung von Salicylsäurephenylester durch Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat oberhalb der c_k erfolgt offensichtlich auf Grund einer Lokalisierung im Kohlenwasserstoffbereich der nichtionogenen Mizelle.

Dies trifft auch für das ionogene Tensid Natriumlaurylsulfat zu. Außerdem wirkt sich bei diesem Tensid noch die elektrostatische Abstoßung der katalysierenden Hydroxylionen aus, wodurch es zu einer besonders ausgeprägten Stabilisierung kommt.

Als Ursache für die Wirkungslosigkeit der Invertseife als Stabilisator ist die positive Aufladung der Tensidmizelle und eine dadurch begünstigte Anziehung und Penetration von Hydroxylionen zu diskutieren. Diese Auffassung wird durch ähnliche Befunde für Methanthelinebromid und p-Nitrophenylester gestützt (6, 68).

b. Untersuchung der Zersetzungsgeschwindigkeit

Mit Hilfe der ARRHENIUS-Gleichung (27, 47, 59) wurden Reaktionskonstanten und Halbwertszeiten für solubilisierten Salicylsäurephenylester in verschiedenen pH-Bereichen ausgewertet (Tab. 3). +)

+) Graphische Darstellung siehe S. 58-60

Pufferlösung	Temperatur	Reaktionskonstante pseudoerster Ordnung	Halbwertszeit	Aktivierungsenergie	Aktionskonstante
	°C	Std.$^{-1}$	Std.	kcal/Mol	log H
pH = 6,9 (Phosphatpuffer n. SÖRENSEN 0,132 m)	70	$1{,}64 \cdot 10^{-2}$	42	25,98	14,78
	60	$5{,}77 \cdot 10^{-3}$	120		
	50	$1{,}56 \cdot 10^{-3}$	440		
	20	$2{,}63 \cdot 10^{-5}$	$2{,}65 \cdot 10^{4}$		
pH = 8,9 (NH_4Cl-NH_4OH-Puffer 0,4 m)	20	$1{,}06 \cdot 10^{-2}$	65	13,60	8,16
	30	$2{,}25 \cdot 10^{-2}$	31		

Tab. 3 Reaktionskonstanten der Hydrolyse von Salicylsäurephenylester in Gegenwart von 5 % Polyäthylenglykol-1400-stearyläther

Den Gesetzmäßigkeiten der Esterhydrolyse entsprechend, verläuft die hydrolytische Spaltung von Salicylsäurephenylester auch nach Solubilisation des Esters im alkalischen Bereich (pH 9) schneller als im neutralen. Die Aktivierungsenergie und damit auch die Halbwertszeiten sind im alkalischen Milieu deutlich vermindert.

Während Solubilisation durch 5 % Polyäthylenglykol-1400-stearyläther bei pH 7 und 20°C eine Halbwertszeit von ca. 3 Jahren erwarten läßt (Tab. 3), zeigt das Spektrum der tensidfreien Lösung in gleicher Weise wie die Spektren der Lösungen, welche nur 0,005 % an Mizellbildner oder 2 % an freiem Polyäthylenglykol enthalten, bei pH 7 und 20°C nach 10 Tagen bereits eine mehr als 50 %ige Zersetzung an (Abb. 7, 10, 27, 28). +)

+) Die Halbwertszeit von Salicylsäurephenylester ohne Tensidzusatz läßt sich wegen der zu geringen Wasserlöslichkeit des Esters (2,5 mg%/20°C) mit der gewählten Methode nicht bestimmen (siehe S. 45 und 58).

Die halbquantitativen Aussagen aus der Verfolgung der Zersetzung im UV-Spektrum werden durch Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit in einem ausgewählten System ergänzt. Daraus ergibt sich die Eignung von Polyäthylenglykoläthern zur Stabilisierung von hydrophoben Arzneistoffen mit Esterfunktion. +)

c. Diskussion der Ergebnisse

Während Oxydationen als Radikalkettenreaktionen durch Mizelleinschluß begünstigt werden können (19, 57), finden hydrolytische Spaltungen bevorzugt außerhalb der Mizelle statt. Das Verteilungsverhältnis zwischen mizellarer Pseudophase und wässeriger Außenphase ist, wie gezeigt werden konnte, im Falle des Salicylsäurephenylesters eindeutig zugunsten der Mizelle verschoben.

Neben dem Verteilungsverhältnis ist das Sättigungsverhältnis zu berücksichtigen, da es ebenfalls den Reaktionsablauf einer Zersetzung beeinflussen kann (54, 57). Aus diesem Grunde sind auch die beiden Versuchsreihen zur Ermittlung der Zersetzungsgeschwindigkeit bei pH 7 und 9 (Tab. 3) nicht direkt mit einander vergleichbar. Sie unterscheiden sich hinsichtlich Pufferzusammensetzung, Ionenstärke und Sättigungsverhältnis.

Die thermisch beschleunigte Zersetzung von Salicylsäurephenylester bei pH 7 wird durch Sekundärreaktionen nicht in erkennbarem Maße beeinflußt. Das Spektrum eines Ansatzes, welcher 10 Tage lang bei 90°C temperiert wurde, entspricht dem einer 100 %igen Zersetzung nach Abb. 6. Es ist daher zulässig, der quantitativen Betrachtung der Zersetzung die Hydrolyse von Salicylsäurephenylester zu Salicylsäure und Phenol zugrunde zu legen, ohne weitere Umsetzungen zu berücksichtigen.

+) Hierbei ist Pufferung erforderlich, sofern eine Verschiebung des pH-Wertes in den sauren Bereich hinein vermieden werden muß (siehe S.57).

Neben dem dominierenden Einfluß der mizellaren Solubilisation können weitere Vorgänge auf die Hydrolysereaktion einwirken. Einerseits wird Polyäthylenglykolderivaten zusätzlich die Fähigkeit zur Ausbildung hydrotroper Bindungen zugeschrieben (43). Andererseits sind für kationische Tenside ionogene Wechselwirkungen mit Acetylsalicylation beschrieben worden (67). Die zuerst genannte Annahme wird durch die Beobachtung bestärkt, daß Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat auch in methanolischer Lösung die Zersetzung von Salicylsäurephenylester vermindert, und zwar deutlich stärker als Natriumlaurylsulfat.

Vorstellungen über mögliche ionogene Wechselwirkungen sind im Zusammenhang mit dem abweichenden Verlauf des Spektrums einer äquimolekularen Mischung von Salicylsäure und Phenol in Gegenwart von Cetyl-trimethylammoniumbromid bemerkenswert (Abb. 11). Auch in anderen Beobachtungen zeichnet sich eine Sonderstellung dieses kationischen Tensides ab (Abb. 8, 9 und 28). Dabei verursacht Cetyl-trimethylammoniumbromid im Spektrum von Phenol im Gegensatz zu Natriumlaurylsulfat und Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat Rotverschiebung des Maximums bei 269,5 nm und Verminderung an Feinstruktur.

Unabhängig von diesen diskutierten Wechselwirkungen zwischen Arznei- und Hilfsstoff steht fest, daß die Lösungsvermittlung durch Mizelleinschluß auf das Reaktionsverhalten und insbesondere die Stabilität eines solubilisierten Esters wesentlichen Einfluß nimmt. Dessen Ausmaß wird von den Eigenschaften des Mizellbildners bestimmt.

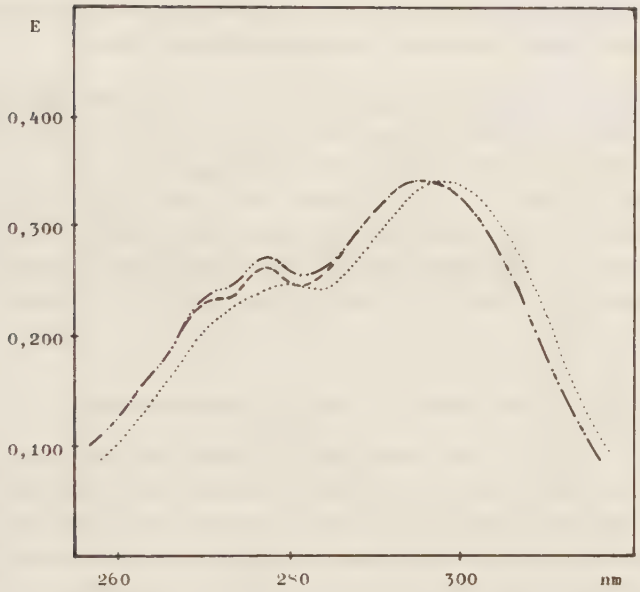


Abb. 11 Einfluß verschiedener Tenside auf das Absorptionsspektrum einer äquimolaren Mischung von Salicylsäure und Phenol (entsprechend 2 mg% Salicylsäurephenylester; 0,5 % Tensid, 0,066 m Phosphatpuffer pH 7,0)

——·••—— Polyäthylenglykol-1400-stearyläther
- - - - - Natriumlaurylsulfat
..... Cetyl-trimethylammoniumbromid

II. Kennzeichnung von Polyäthylenglykolderivaten

Die Verwendung polyäthylenglykolhaltiger Lösungsvermittler im Rahmen der vorliegenden Arbeit setzt eine genaue Kenntnis ihrer komplexen Zusammensetzung voraus.

Der Nachweis homologer Strukturen in technisch hergestellten Polyäthylenglykolderivaten gelingt u.a. in begrenztem Maße durch Dünnschichtchromatographie (8, 13, 17, 28, 45). Die nähere Kennzeichnung dieser Homologen sowie die Identifizierung unbekannter Tenside erfordern bisher entweder erheblichen analytischen Aufwand (58) oder sind lückenhaft. Trennung und Identifizierung von Gemischen homologer Polyäthylenglykol-Stearate wurden bisher noch nicht beschrieben.

1. Nachweis der verschiedenen Verbindungsklassen

Die Verbindungsklassen der Polyäthylenglykol-Fettsäureester, -Sorbitanfettsäureester, -Fettalkoholäther und -Polypropylenglykoläther lassen sich dünnschichtchromatographisch in charakteristischer Weise auftrennen und unterscheiden. Von den untersuchten Fließmittelsystemen ermöglicht n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % (14:3:5) die günstigste Trennung dieser Verbindungen in einzelne Komponenten. Ihr Nachweis erfolgt durch modifiziertes DRAGENDORFF-Reagens (Abb. 12).

Wie Abb. 12 zeigt, werden die untersuchten Polyäthylenglykol-Stearate in drei, die Polyäthylenglykol-Sorbitanmonofettsäureester in sechs Komponenten aufgetrennt. Polyäthylenglykol-Fettalkoholäther sind durch eine Hauptkomponente und ein bis drei schwach ausgebildete Komponenten gekennzeichnet. Polyäthylenglykol-Polypropylenglykoläther bilden einen einzigen langgezogenen Fleck.

Unterschiede im Molekulargewicht der hydrophilen Polyäthylenglykolkette dieser Tenside beeinflussen die Rf-Werte deutlich. Bei Polyäthylenglykol-400-, -900-, -2000- und

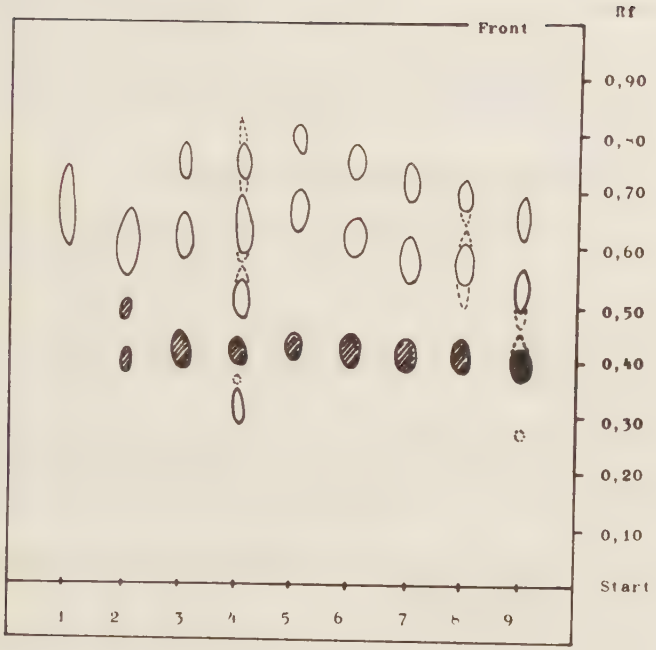


Abb. 12 Nachweis verschiedener grenzflächenaktiver Derivate des Polyäthylenglykols durch Dünnschichtchromatographie +)
(n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % 14:3:5)

1 : Polyäthylenglykol- 800-polypropylenglykol-1200-äther
2 : Polyäthylenglykol- 900-stearyläther
3 : Polyäthylenglykol- 900-stearat
4 : Polyäthylenglykol- 900-sorbitanmonooleat
5 : Polyäthylenglykol- 400-stearat
6 : Polyäthylenglykol- 900-stearat
7 : Polyäthylenglykol-1800-stearat
8 : Polyäthylenglykol-2000-stearat
9 : Polyäthylenglykol-4700-stearat

+) Die aus freien Polyäthylenglykolen bestehenden Komponenten sind durch Schraffierung gekennzeichnet.

-4700-stearat führen diese verhältnismäßig großen Differenzen des Polymerisationsgrades zu einem Absinken der Rf-Werte mit ansteigender Kettenlänge der Homologen (Abb. 12). Ein ähnliches Verhalten zeigen Polyäthylenglykol-Äther.

2. Identifizierung der Einzelkomponenten

Für den papier- und dünnschichtchromatographischen Nachweis kann es von Vorteil sein, wenn alle Polyäthylenglykolverbindungen unabhängig vom Molekulargewicht des Polyäthylenglykolanteils und vom Typ der hydrophoben Komponente als einheitliche Substanzklasse reagieren (18, 23, 29, 38, 45, 50, 69). Dagegen führen die mit Hilfe von n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % erhaltenen gruppenspezifischen Chromatogramme zu einer genaueren Kennzeichnung der Bestandteile von Hilfsstoffen auf Polyäthylenglykolbasis.

a. Unterscheidung von freien Polyäthylenglykolanteilen und Tensidkomponenten

Grenzflächenaktive Ester und Äther von Polyäthylenglykolen enthalten in der Regel entsprechende Anteile von freien Polyäthylenglykolen (17, 29, 65, 69, 77, 82, 98). Eine Unterscheidung dieser Polyäthylenglykolanteile von den Komponenten der Polyäthylenglykolderivate gelingt durch Besprühen mit 0,005 n Jodlösung, während durch DRAGENDORFF-Reagens die Komponenten beider Verbindungstypen angefärbt werden. Da die Reaktion mit 0,005 n Jodlösung nur bei Polyäthylenglykolderivaten positiv ausfällt, kann für die in Abb. 12 differenzierten Komponenten der Schluß gezogen werden, daß jeweils im unteren Rf-Bereich (Rf = 0,35-0,50) freies Polyäthylenglykol vertreten ist.

Die Identifizierung esterartig gebundener Tensidkomponenten läßt sich über die alkalische Verseifung durchführen. An Stelle der Polyäthylenglykol-Ester treten im

Chromatogramm dann nur noch freie Fettsäuren und Polyäthylenglykole auf (Abb. 38).

Bei Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat (siehe Abb. 12) verläuft die Nachweisreaktion auf Polyäthylenglykolderivate auch im Falle der Komponente mit dem niedrigsten Rf-Wert (0,30) negativ (Abb. 38). Das Wanderungsverhalten deutet jedoch darauf hin, daß hier ein anderer hydrophiler Anteil (u.U. Polyäthylenglykol-Sorbitanäther) zusätzlich enthalten ist.

b. Nachweis und Differenzierung homologer Polyäthylenglykole

Das Fließmittelsystem Chloroform/Methanol/Wasser (3:25:12) gestattet die Differenzierung der Polyäthylenglykolanteile in nichtionogenen Tensiden (Abb. 13 und 40).

Wie aus Abb. 13 hervorgeht, ist der Trenneffekt bei Mischungen von Homologen mit stark abweichenden Molekulargewichten deutlich. Infolge der sehr ähnlichen Eigenschaften sowie der uneinheitlichen Kettenlängen handelsüblicher Polymerisationsstufen ist die Möglichkeit einer Auftrennung bei geringen Unterschieden der Molekulargewichte begrenzt.

Eine Differenzierung der niederen Homologen kann bei Mindestunterschieden von 7 bis 9 Polymerisationseinheiten (300-400 Molekulargewichtseinheiten) erreicht werden. Bei höher molekularen Polyäthylenglykolen sind größere Unterschiede erforderlich. Darin bestätigen sich vergleichbare Befunde papierchromatographischer Untersuchungen (29, 49, 58, 65, 87). An ungefestigten Kieselgelschichten und kieselgelbeladenem Papier wird geringere Trennschärfe erreicht (69, 13).

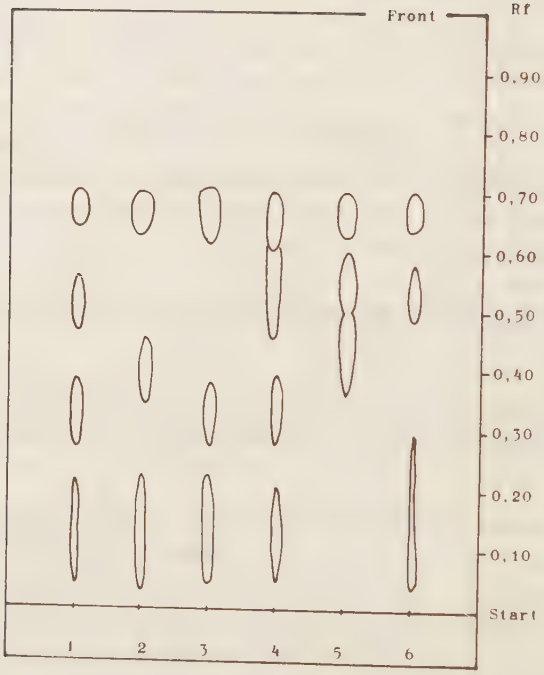


Abb. 13 Differenzierung von Gemischen der Polyäthylenglykole 200 bis 6000
(Chloroform/Methanol/Wasser 3:25:12)

1 : PÄG 400, 1000, 2000, 5/6000
2 : PÄG 400, 1500, 5/6000
3 : PÄG 300, 400, 2000, 5/6000
4 : PÄG 200, 600, 1000, 2000, 5/6000
5 : PÄG 200, 400, 1000, 1500
6 : PÄG 400, 1000, 4000, 5/6000

c. Differenzierung der Tensidkomponenten

Eine weitere Trennung und Identifizierung der mit dem Gemisch n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % erhaltenen gruppenspezifischen Chromatogramme ist mit dem Fließmittel "wassergesättigtes Äthylmethylketon" in Verbindung mit der "Durchlaufenden Dünnschichtchromatographie" möglich. Durch zweidimensionale Chromatographie unter Verwendung beider Fließmittel läßt sich der Nachweis von Einzelkomponenten wesentlich verbessern (Abb. 14).

Der Vorgang der Auftrennung von Polyäthylenglykol-900-stearat wird durch die unter I und II wiedergegebenen e i n d i m e n s i o n a l e n Vergleichschromatogramme aufgezeigt: Während durch n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % (I) eine Trennung in drei Flecke erfolgt, gelingt es, durch wassergesättigtes Äthylmethylketon eine größere Anzahl von Estern der Polyäthylenglykole verschiedenen Oxäthylierungsgrades zu differenzieren (Vergleichschromatogramm II). Die Anwendung der "Durchlaufenden Dünnschichtchromatographie" ermöglicht gegenüber der einfachen Chromatographie eine bessere Auftrennung insbesondere der höhermolekularen Tenside. Während der Anteil an freien Polyäthylenglykolen am Startpunkt verbleibt, werden die Polyäthylenglykolderivate bis zu einem Oxäthylierungsgrad von 20 (=Mol.-Gew. 1000) differenziert.

Chromatographiert man zunächst mit n-Butanol/Äthanol/Ammoniak (Fließrichtung 1) und anschließend auf der um 90° gedrehten Dünnschichtplatte mit wassergesättigtem Äthylmethylketon (Fließrichtung 2), so ergibt sich die in Abb.14 wiedergegebene Auftrennung der Tensidkomponenten.

Durch Verringerung der Auftragungsmenge sowie durch Besprühen mit Jod-Stärke-Reagens können aus der großen Zahl der vorliegenden Polymerisationsstufen (52, 82, 90, 98) deren hauptsächliche Komponenten erfaßt werden (Abb. 37).

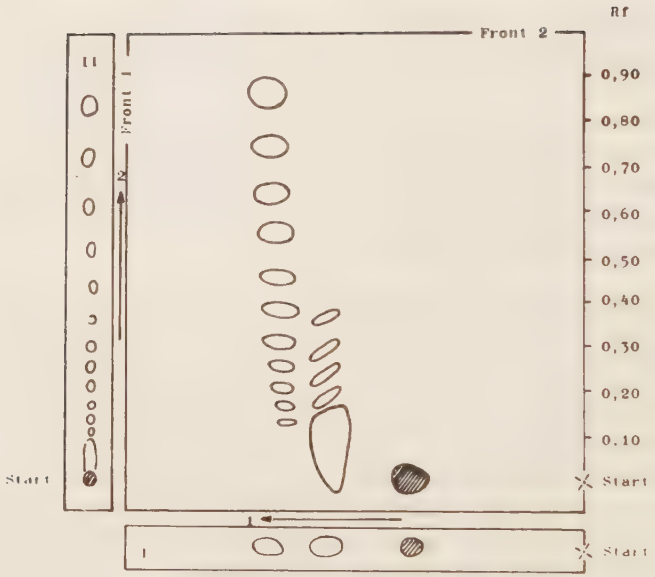


Abb. 14 Identifizierung von Polyäthylenglykol-900-stearat durch zweidimensionale Chromatographie +)
(Fließrichtung 1: n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % 14:3:5;
Fließrichtung 2: wassergesättigtes Äthylmethylketon; BN-Kammer; 3 Stunden)

+) Die aus freien Polyäthylenglykolen bestehenden Komponenten sind durch Schraffierung gekennzeichnet.

Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen ist anzunehmen, daß die Zahl dieser Flecke die Schwankungsbreite des Oxäthylierungsgrades der Tenside charakterisiert, welcher hinsichtlich der häufigsten Homologen ± 2 bis 3 Äthylenoxideinheiten beträgt.

In entsprechender Weise können differenziert werden: Polyäthylenglykol-400- und -900-stearat, Polyäthylenglykol-250- und -600-lauryläther, Polyäthylenglykol-900-stearyläther sowie die Polyäthylenglykol-Sorbitanfettsäureester, soweit die mit abnehmendem Polyäthylenglykolgehalt verminderten Anfärbemöglichkeiten durch DRAGENDORFF-Reagens dies erlauben.

3. Identifizierung von Gemischen verschiedener Polyäthylenglykol-Stearate

Die Identifizierung von Gemischen verschiedener Polyäthylenglykol-Stearate gelingt über den Nachweis der darin enthaltenen freien Polyäthylenglykolanteile (Abb. 15).

Die Chromatographie solcher Gemische mit e i n e m Fließmittel ermöglicht keine brauchbaren Trennungen (Abb. 15, Vergleichschromatogramm I und II). Durch zweidimensionale Chromatographie können jedoch die charakteristischen Polyäthylenglykolanteile erfaßt werden. Die Tensidgemische werden zunächst mit n-Butanol/Äthanol/Ammoniak aufgetrennt (Abb. 15; Fließrichtung 1; Vergleichschromatogramm I); anschließend erfolgt auf der um 90° gedrehten Dünnschichtplatte mit Hilfe von Chloroform/Methanol/Wasser die Differenzierung der enthaltenen freien Polyäthylenglykole (Abb. 15). Die an der Startlinie 2 verbleibenden Flecken stellen Polyäthylenglykolderivatanteile dar, welche aus Polyäthylenglykol-400- und -900-stearat stammen.

Wurde das Polyäthylenglykolderivat statt durch Veresterung durch Adduktbildung (82) hergestellt, so kann

Abb. 15 Auftrennung eines Gemisches verschiedener Polyäthylenglykol-Stearate durch zweidimensionale Chromatographie +)

(Fließrichtung 1: n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % 14:3:5;
Fließrichtung 2: Chloroform/Methanol/Wasser 3:25:12)

A) Polyäthylenglykol- 400-stearat
B) Polyäthylenglykol- 900-stearat
C) Polyäthylenglykol-2000-stearat
D) Polyäthylenglykol-4700-stearat

+) Die aus freien Polyäthylenglykolen bestehenden Komponenten sind durch Schraffierung gekennzeichnet.

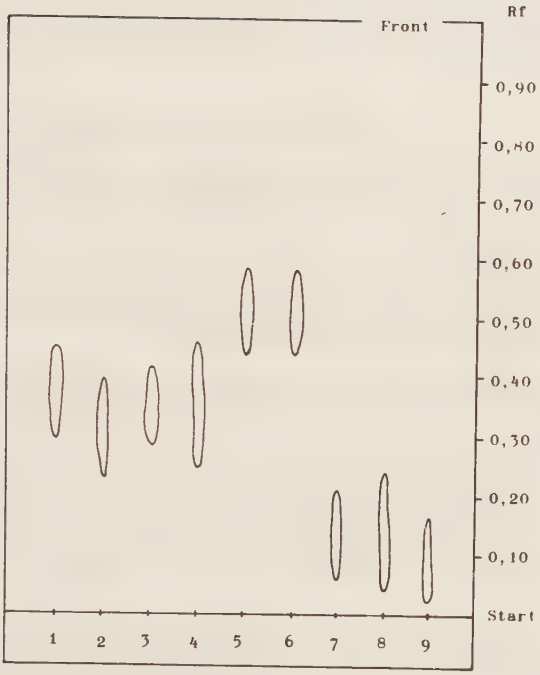


Abb. 16 Ermittlung der Zusammensetzung von Suppositorien-grundlagen
(Chloroform/Methanol/Wasser 3:25:12)

1 : PÄG 1500
2 : PÄG 2000
3 : Postonal W®, Mol.-Gew.2000
4 : PÄG 1500 + 2000
5 : PÄG 1000
6 : Suppogen ON®, Mol.-Gew.1000
7 : Suppogen O®, Mol.-Gew.4000
8 : PÄG 4000
9 : PÄG 5/6000

das in Nebenreaktion entstandene Polyäthylenglykol ein abweichendes Molekulargewicht besitzen (90). Ein eindeutiger Nachweis gelingt in diesem Falle nach vorheriger alkalischer Verseifung der Hilfsstoffe.

In gleicher Weise ist durch zweidimensionale Chromatographie die Identifizierung unbekannter Tenside auf Polyäthylenglykolbasis nach Verbindungstyp und Molekulargewichtsbereich des Polyäthylenglykolanteils durchführbar (Abb. 41).

4. Nachweis von Polyäthylenglykolderivaten und Polyäthylenglykolen in Arzneizubereitungen

Tenside der mit Hilfe von n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % näher charakterisierten Verbindungsklassen können in den meisten Fällen direkt aus Arzneizubereitungen wie tensidhaltigen Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen nachgewiesen und über Vergleichschromatogramme identifiziert werden. Komplexe Arzneizubereitungen erfordern vorherige Trennung.

Salben- und Suppositoriengrundlagen auf der Basis von reinen Polyäthylenglykolen lassen sich direkt analysieren (Abb. 16). Etwa enthaltene Hilfsstoffe wie Cetylalkohol, Glycerinmonostearat oder Vaselin beeinflussen die entsprechende Auftrennung von Polyäthylenglykolsalben nicht.

C. Experimenteller Teil

I. Nachweis und Bestimmung von Salicylsäure, Phenol und Salicylsäurephenylester in Anwesenheit von Lösungsvermittlern

1. Chromatographische Differenzierung

Zur Bestimmung von Gemischen nahe verwandter Phenolkörper eignet sich die Methode der Dünnschichtchromatographie. Eine hierbei mögliche Abtrennung des Lösungsvermittlers vermeidet Fehlerquellen bei der anschließenden spektralphotometrischen Ermittlung der Phenole.

a. Beeinflussung der Rf-Werte durch pharmazeutische Hilfsstoffe

Dünnschichtchromatographische Trennungen von lösungsvermittelten Systemen erfordern besondere Eigenschaften des Fließmittels, da die Hilfsstoffe das chromatographische Verhalten der Substanzen stören können.

Wie Abb. 17 zeigt, ändert sich in Anwesenheit von Hilfsstoffen der Rf-Wert von Salicylsäure. Es ist dabei gleichgültig, ob Salicylsäure und Hilfsstoff zusammen als wässeriges Solubilisat (=a) oder getrennt in organischen Lösungsmitteln gelöst (=b) aufgetragen werden (Tab. 4).

Rf-Verschiebungen durch Hilfsstoffe sind abhängig vom Schichtmaterial (Tab. 4). Als Ursache für die Beeinflussung des Wanderungsverhaltens muß eine Verzögerung der Diffusion durch die Hilfsstoffe angenommen werden.

Elektrolytzusätze zum Schichtmaterial verändern die Abgabe unterschiedlich. Bei Verteilungschromatographie mit Paraffin als stationärer Phase zeigen Zuckerester gegenüber Polyäthylenglykolderivaten und Polyäthylenglykolen abweichende Beeinflussung der Diffusion (Tab. 4).

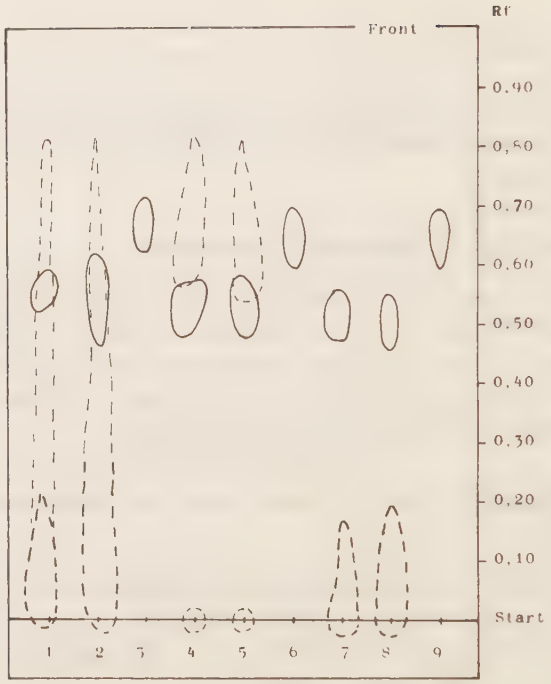


Abb. 17 Einwirkung verschiedener Hilfsstoffe (- - -) auf den Rf-Wert von Salicylsäure (———) (n-Pentan/Chloroform/Methanol 2:3:15 - getrocknet mit Na_2SO_4; Kieselgel G)

1 : 7 γ Salicylsäure +) in Chloroform + 200 γ PÄG-900-stearat ++) in Methanol

2 : 7 γ Salicylsäure + 200 γ PÄG-900-stearat in Wasser solubilisiert

3,6,9 : 7 γ Salicylsäure in Chloroform

4 + 5 : entsprechend 1+2 mit 200 γ Sucrosemonolaurat +++)

7 + 8 : entsprechend 1+2 mit 200 γ PÄG 5/6000 ++)

+) Identifizierung auf Grund der Eigenabsorption bei 254 nm

++) Identifizierung durch modifiziertes DRAGENDORFF-Reagens

+++) Identifizierung durch Harnstoff-Reagens (44)

Vorbehandlung der Sorptionsschicht	Art des Hilfsstoffes					
	PÄG-900-stearat		Sucrose-monolaurat		PÄG 5/6000	
	a)	b)	a)	b)	a)	b)
Kieselgel G unvorbehandelt	+	+	+	+	+	+
Kieselgel H unvorbehandelt	+	+	+	+	+	+
Kieselgel H salzsauer +)	+	+	+	+	–	–
Kieselgel G + 2,2 % KOH	+	–	+	+	–	–
Kieselgel G + 10 % NaCl	+	+	+	+	–	–
Kieselgel G + Paraffinum subliquidum ++)	+	–	–	–	+	–

Tab. 4 Beeinflussung des Rf-Wertes von Salicylsäure durch Hilfsstoffe in Abhängigkeit von Art und Vorbehandlung der Trennschicht +++)
(n-Pentan/Chloroform/Methanol 2:3:15 - getrocknet mit Na_2SO_4)

b. Abtrennung des Lösungsvermittlers und Nachweis der Arzneistoffe

In der Regel werden komplexe Systeme aus Arznei- und Hilfsstoffen einer ersten Auftrennung durch Ausschüttelung unterworfen (21, 31, 35). Neuerdings sind aber auch Abtrennungen von Lösungsvermittlern durch Dünnschichtchromatographie bekannt geworden (93). Ein entsprechendes Verfahren eignet sich für die vorliegende Problemstellung.

Die mobile Phase n-Pentan/Eisessig (99 %)/n-Butanol (88:12:0,5) erlaubt die Abtrennung von Polyäthylenglykolderivaten der Äther-, Sorbitanester- und Estergruppe sowie gleichzeitig die Differenzierung von Salicylsäurephenyl-

+) vorgereinigt mit salzsaurem Methanol

++) zur Imprägnierung chromatographiert mit einer 10 %igen Lösung von Paraffinum subliquidum in Petroläther

+++) Verschiebung des Rf-Wertes ist mit +, Gleichbleiben mit - gekennzeichnet.

Abb. 18 Differenzierung von Salicylsäurephenylester, Phenol und Salicylsäure unter Abtrennung von Polyäthylenglykol-900-stearat +)
(n-Pentan/Eisessig (99 %)/n-Butanol 88:12:0,5)

1 : 10 γ Salicylsäurephenylester + 200 γ PÄG-900-stearat
2 : 10 γ Salicylsäure
3 : 10 γ Phenol
4 : 1+2+3

+) Identifizierung der Phenolkörper durch diazotiertes p-Nitranilin nach I.M.HAIS und K.MACEK (32) /20 % Na_2CO_3
Identifizierung des Polyäthylenglykolderivates durch modifiziertes DRAGENDORFF-Reagens

ester, Phenol und Salicylsäure (Abb. 18). Auch die Trennung von Benzoesäure und ihren Mono- und Dihydroxyderivaten ist durch dieses Fließmittel möglich (Abb. 21).

Die Auftrennung erfolgt nach Abb. 18 an Kieselgel G und H sowie an vorbehandeltem salzsaurem Kieselgel H ohne Beeinflussung der Rf-Werte durch die Mizellbildner. Sie ist möglich bei Auftragen in organischen Lösungsmitteln, in Wasser oder in Phosphatpuffer. In Boratpuffer verbleibt Salicylsäure am Start, möglicherweise infolge komplexbildung (Abb. 19). In Stabilitätsansätzen mit Ammoniumchlorid-Ammoniak-Puffer spaltet Salicylsäure in zwei Komponenten auf (Abb. 19).

Wie aus Abb. 19 hervorgeht, differenzieren sich in dem mit Ammoniumchlorid und Ammoniak gepufferten Ansatz folgende Komponenten: Salicylsäurephenylester (Rf 0,84), Salicylsäure I (Rf 0,50), Phenol (Rf 0,28) und Salicylsäure II (Rf 0,10). Im Falle der Komponente mit dem Rf-Wert 0,10 ist über das UV-Spektrum des Chloroformeluates Salicylsäure nachweisbar (Abb. 20).

Das Verhältnis, in welchem Salicylsäure zwischen die Flecken I und II verteilt ist, verschiebt sich mit zunehmender Konzentration an Ammoniumchlorid-Ammoniak-Puffer zugunsten des Salicylsäureflecks II.

Wenn auch der Rf-Wert auf Gentisinsäure als Umsetzungsprodukt der Salicylsäure hinweisen könnte, so ist doch eine solche Umwandlung (83) unter den gegebenen Reaktionsbedingungen unwahrscheinlich. Auch zeigt die Komponente mit Rf 0,10 in Trennungen des mit Ammoniumchlorid und Ammoniak gepufferten Ansatzes nicht die für Gentisinsäure beobachtbare Eigenfluoreszenz bei 366 nm. Außerdem tritt diese Komponente im Chromatogramm einer einfachen Salicylsäurelösung in Ammoniumchlorid-Ammoniak-Puffer (Abb. 21) nicht auf. Die Ursache für ihr Zustandekommen ist im Stabilitätsansatz zu suchen.

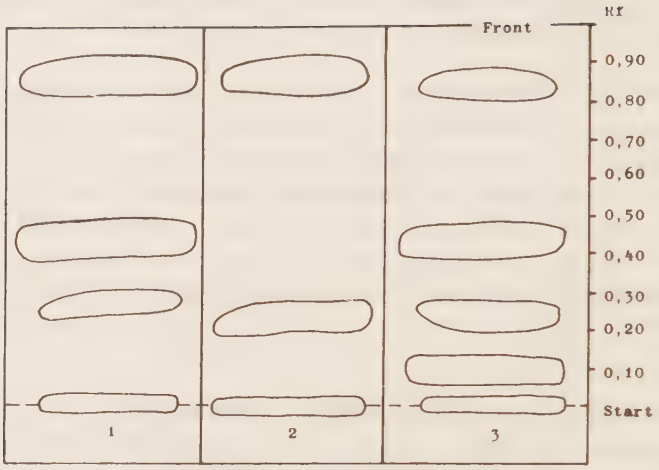


Abb. 19 Einwirkung verschiedener Puffersysteme auf die dünnschichtchromatographische Trennung von Salicylsäurephenylester, Salicylsäure, Phenol und Polyäthylenglykol-1400-stearyläther (n-Pentan/Eisessig (99 %)/n-Butanol 88:12:0,5; Kieselgel H salzsauer +)

1 : 0,132 m Phosphatpuffer pH 7
2 : 0,35 m Boratpuffer pH 10
3 : 0,4 m NH_4Cl/NH_4OH-Puffer pH 9

+) Identifizierung der Bänder durch Fluoreszenzlöschung im UV-Licht bei 254 nm auf der Dünnschichtplatte mit Fluoreszenzindikator (Phenolkörper)

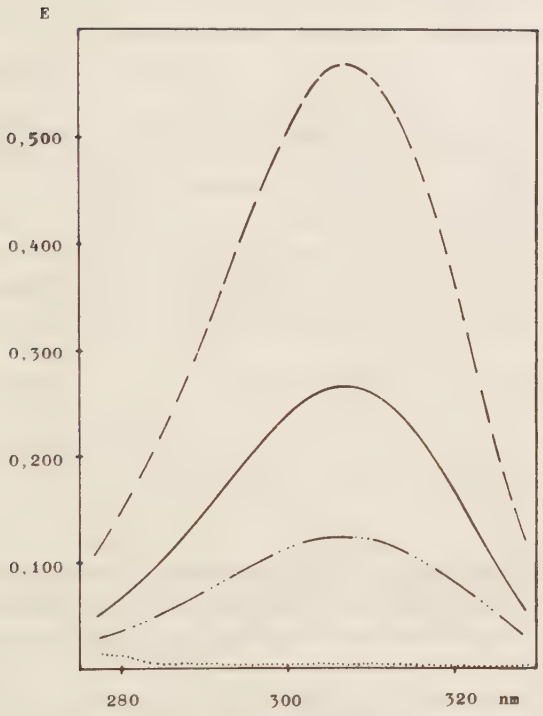


Abb. 20 Vergleich des Spektrums von Salicylsäure in Chloroform mit den Eluaten aus der dünnschichtchromatographischen Auftrennung eines Stabilitätsansatzes +)

———— 0,8 mg% Salicylsäure in Chloroform p.a.
- - - - - Eluat aus der Komponente mit Rf 0,50
——..—— Eluat aus der Komponente mit Rf 0,10
..... Eluat aus der Komponente mit Rf 0,28 ++)

+) Die Eluate einer dünnschichtchromatographischen Trennung nach Abb. 19, Nr. 3 werden mit Chloroform p.a. erhalten und gegen Blindeluate gemessen.

++) Phenol ist durch Chloroform nicht desorbierbar.

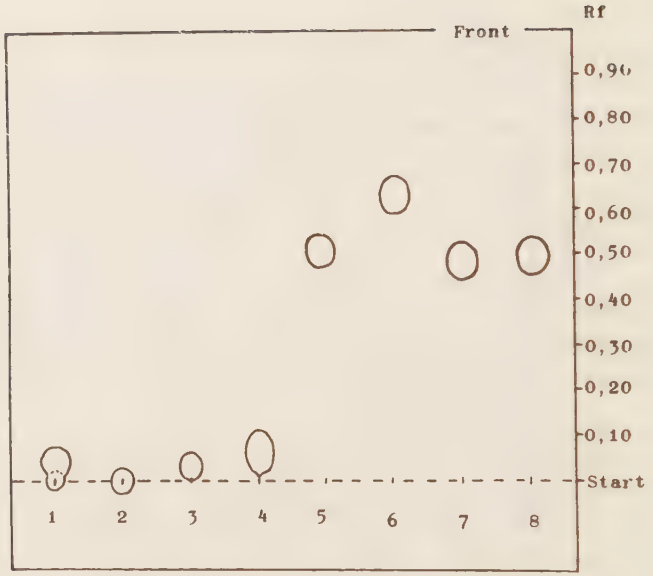


Abb. 21 Differenzierung von Benzoesäure, o-Hydroxybenzoesäure und Dihydroxybenzoesäuren bei gleichzeitiger Abtrennung von Polyäthylenglykol-1400-stearyläther

(n-Pentan/Eisessig (99 %)/n-Butanol 88:12:0,5) +)

1 : 10 γ Gentisinsäure + 200 γ PÄG-1400-stearyläther in 0,132 m Phosphatpuffer pH 7

2 : 10 γ Protocatechusäure in Methanol

3 : 10 γ Gentisinsäure in Methanol

4 : 10 γ γ-Resorcylsäure in Methanol

5 : 10 γ Salicylsäure in Methanol

6 : 10 γ Benzoesäure in Methanol

7 : 10 γ Salicylsäure + 200 γ PÄG-1400-stearyläther in 0,132 m Phosphatpuffer pH 7

8 : 10 γ Salicylsäure + 200 γ PÄG-1400-stearyläther in 0,4 m NH_4Cl/NH_4OH-Puffer pH 9

+) Identifizierung durch
a) Fluoreszenzlöschung bei 254 nm auf der Dünnschichtplatte mit Fluoreszenzindikator
b) Eigenfluoreszenz bei 366 nm
c) diazotiertes p-Nitranilin n.I.M.HAIS und K.MACEK (32)/ 20 % Na_2CO_3

Bei Prüfung eines Chloroformeluates aus dem Auftragungsbereich, in welchem bei der chromatographischen Trennung das Polyäthylenglykolderivat verbleibt, deutet sich an, daß geringe Anteile phenolischer Substanz vom Hilfsstoff zurückgehalten werden.

2. Quantitative Bestimmung der Arzneistoffe

Die beschriebene dünnschichtchromatographische Trennung eignet sich auch zur quantitativen Bestimmung der Salicylsäure, welche bei der Hydrolyse von Salicylsäurephenylester entsteht. Bei Verwendung von Ammoniumchlorid-Ammoniak-Puffer werden beide Salicylsäurebänder zusammen erfaßt.

a. Methodik

Vorreinigung des Kieselgels:
Zur Entfernung von Eisenionen und anderen Verunreinigungen werden 150 g Kieselgel H mit 300 g einer Mischung aus 30 g rauchender Salzsäure und 270 g Methanol säulenchromatographisch eluiert, mit 300 g Methanol nachgewaschen, 12 Stunden bei 110°C getrocknet und durch ein Sieb der Maschenweite 0,15 mm geschlagen.

Beschichtung der Dünnschichtplatten:
29,4 g vorgereinigtes Kieselgel H und 0,6 g Fluoreszenzindikator (26) werden mit 55 g Wasser 2 Minuten lang angerieben, mit Hilfe eines Streichgerätes auf 5 Platten 20 x 20 cm in 0,25 mm dicker Schicht ausgestrichen, 45 Minuten lang bei 110°C aktiviert und im Vakuumexsikkator über Blaugel aufbewahrt.

Auftragung:
Zur Auftragung der Analysenlösung dient eine Mikrometer-Dosierspritze (Fa.DESAGA, Heidelberg). Die Breite der Auftragungsbande ist so zu wählen, daß die Aufnahmekapazität des Sorptionsmaterials nicht erschöpft wird. Die Schicht selbst darf keine Beschädigung erfahren.

Bei den Stabilitätsuntersuchungen ist die Auftragungsmenge stets 50 µl auf 3-4 cm Bandbreite, 2,5 cm von der Unterkante der Platte entfernt.

Entwicklung:
Fließmittel: n-Pentan/Eisessig (99 %)/n-Butanol (88:12:0,5); Laufhöhe: 10 cm bei Kammersättigung in einem Glastrog (21 x 21 x 9 cm) mit plangeschliffenem Deckel; Eintauchhöhe der Platte in das Fließmittel: 6-8 mm.

Abhebung der Schicht:
Nach Trocknen der Schicht durch Fönen mit Kaltluft werden die unter UV-Licht (254 nm) markierten Kieselgelbereiche mit Hilfe einer zusammengebogenen Rasierklinge abgekratzt und in ein Zentrifugenglas mit eingeschliffenem Stopfen überführt. Ein flächengleiches Stück reine Sorptionsschicht desselben Rf-Bereiches dient zur Gewinnung eines Blindeluates.

Elution:
Zu den im Zentrifugenglas gesammelten Kieselgelanteilen pipettiert man 10,0 ml Chloroform p.a. und läßt mit einem Magnetrührkern 25 Minuten lang rühren. Nach anschließendem Zentrifugieren (25 Minuten, ca. 3000 U/min) werden aus der überstehenden Chloroformschicht 5 ml in verschließbare Quarzküvetten von 1 bzw. 2 cm Schichtdicke abpipettiert. Zum Absetzen von Partikeln bleiben diese ca. 20 Minuten lang stehen.

Spektralphotometrische Bestimmung:
Die quantitative Bestimmung erfolgt durch Messung der Extinktion ($E = \log I_0/I$) im Maximum des Salicylsäurespektrums in Chloroformlösung bei 307 ± 2 nm (Spektralphotometer PM QII, Fa.C.ZEISS, Oberkochen) über eine Eichkurve. Diese bezieht sich auf die eluierbare Menge Salicylsäure (Abb. 22).

Als Vergleichslösung für die spektralphotometrische Messung dient ein Blindeluat, dessen Gewinnung gleichzeitig und völlig gleichartig wie die der Meßlösung erfolgt.

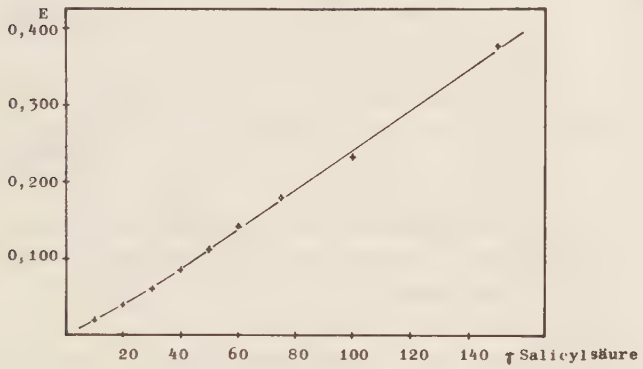


Abb. 22 Eichkurve für Salicylsäure in Chloroform bei 307 ± 2 nm nach dünnschichtchromatographischer Trennung des Systems 200 mg% Salicylsäure/ 300 mg% Salicylsäurephenylester/5 % Polyäthylenglykol-1400-stearyläther/0,132 m Phosphatpuffer pH 7,0 (bezogen auf 1 cm Schichtdicke)

b. Diskussion

Der Eichkurve nach Abb. 22 liegt die Modellmischung einer 50 %igen Zersetzung von 600 mg% Salicylsäurephenylester zugrunde. Ihr Gehalt an Lösungsvermittler und Puffersubstanz entspricht den Verhältnissen der beschleunigten Stabilitätsuntersuchung. Die Genauigkeit, mit welcher die bei der Hydrolyse von Salicylsäurephenylester gebildete Salicylsäure bestimmt werden kann, zeigt Tab. 5.

Aufgetragene Menge Salicylsäure (γ)	Extinktion +) bezogen auf 1 cm Schichtdicke	Standardabweichung ++)	ε^*_{korr}
10	0,044 ± 0,0035	± 16 %	21,85
25	0,058 ± 0,0065	± 11 %	23,14
50	0,114 ± 0,004	± 3,5 %	22,76
75	0,182 ± 0,008	± 4,2 %	24,21
100	0,234 ± 0,012	± 4,9 %	23,37
150	0,376 ± 0,017	± 4,3 %	25,07
			MW 23,80

Tab. 5 Standardabweichungen und korrigierte Werte für den spezifischen Extinktionskoeffizienten ε^* der Eichkurve (Abb. 22)

Die Desorption der Salicylsäure ist mit zunehmender Auftragungsmenge begünstigt. Die Fehlerbreite der Bestimmung von Salicylsäuremengen über 50 γ ist kleiner als ± 5 %.

Aus der Eichkurve für eluierbare Salicylsäure (Abb. 22) kann, wie Tab. 5 zeigt, kein einheitlicher Extinktionskoeffizient ε^*_{korr} abgeleitet werden. In Chloroform gelöst und direkt gemessen, besitzt Salicylsäure dagegen den spezifischen Extinktionskoeffizienten ε^* = 29,90 (Abb. 23). Aus dem Vergleich der ε^*_{korr}-Werte (Tab. 5) mit ε^* = 29,90 als absolutem Standard ergibt sich für jeden Konzentrationsbereich die "absolute Wiederauffindung" (9, 26). Diese beträgt, bezogen auf den rechnerischen Mittelwert (ε^*_{korr} = 23,80) 79,6 %. Sie kennzeichnet die bei der quantitativen dünnschichtchromatographischen Bestimmung eintretenden Verluste und schließt dabei u.a. einen "Lauffehler" von 5 % ein.

+) Mittelwerte aus 5-6 Bestimmungen

++) $f_m = \sqrt{\frac{\delta\,(f^2)}{n-1}}$

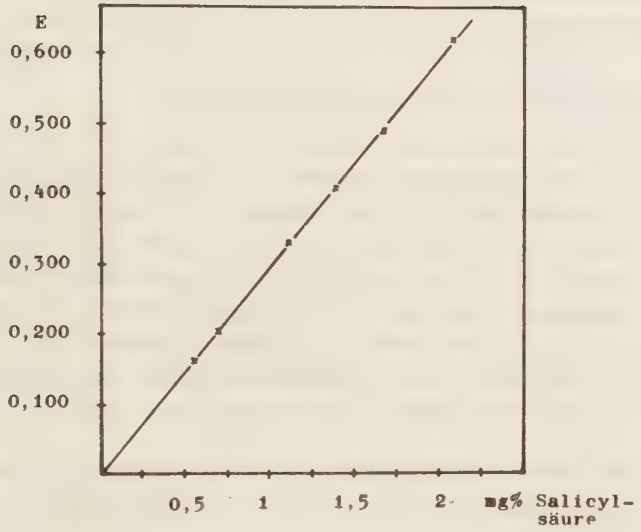


Abb. 23 Eichkurve für Salicylsäure in Chloroform bei 307 ± 2 nm (bezogen auf 1 cm Schichtdicke); $\varepsilon^* = 29{,}90$

Unterschiede in der Zusammensetzung der Auftragelösung verursachen Schwankungen im Prozentsatz der Wiederauffindung. Steigender Tensidgehalt sowie eine Vermehrung der Begleitsubstanzen der Salicylsäure verschlechtern die Wiederauffindung.

II. Spektralphotometrische Untersuchungen von Salicylsäurephenylester in Gegenwart von Mizellbildnern

Die UV-Spektren solubilisierter Substanzen erfahren Verschiebungen in Abhängigkeit von der Konzentration an Mizellbildner (Tab. 2). Daher erfordern quantitative Bestim-

mungen in lösungsvermittelten Systemen besondere Maßnahmen zur Vermeidung von Fehlern (11, 30, 31, 33, 78, 99).

1. Beeinflussung des Absorptionsspektrums

64,3 mg Salicylsäurephenylester werden in 3000 ml 0,066 m Phosphatpuffer ($Na_2HPO_4.2H_2O$,$NaH_2PO_4.H_2O$) pH 7,0 durch Erwärmen bis 45°C und intensives Schütteln gelöst. Nach Zugabe des Tensides stellt man hieraus die Meßlösung mit einem Gehalt von 2 mg% Salicylsäurephenylester her. Die Messung erfolgt unter Vergleich mit Lösungen gleicher Konzentration an Hilfsstoff in Phosphatpuffer (Quarzküvetten, Schichtdicke 1 cm; selbstschreibendes Spektralphotometer DK 2A, Fa. BECKMAN INSTRUMENTS, München).

Eine Zeitabhängigkeit für die Ausbildung der spektralen Verschiebung konnte nicht festgestellt werden.

Eine Störung des Absorptionsspektrums des mizellar gelösten Salicylsäurephenylesters durch einen in der wässerigen Außenphase gelösten Anteil (78) ist nicht zu beobachten.

Abb. 24 zeigt in Ergänzung zu Abb. 2, daß nichtionogene Tenside des Polyäthylenglykol-Ester- und -Sorbitanestertyps das Spektrum von Salicylsäurephenylester in praktisch identischer Weise beeinflussen.

Für den konzentrationsbereich unterhalb der c_k sind nur schwache spektrale Veränderungen zu beobachten (Abb. 25).

Wie aus Abb. 26 hervorgeht, beeinflussen konzentrationen bis zu 2 % Polyäthylenglykol 1000 nicht die Lage des Maximums im Spektrum von Salicylsäurephenylester (siehe auch Tab. 2).

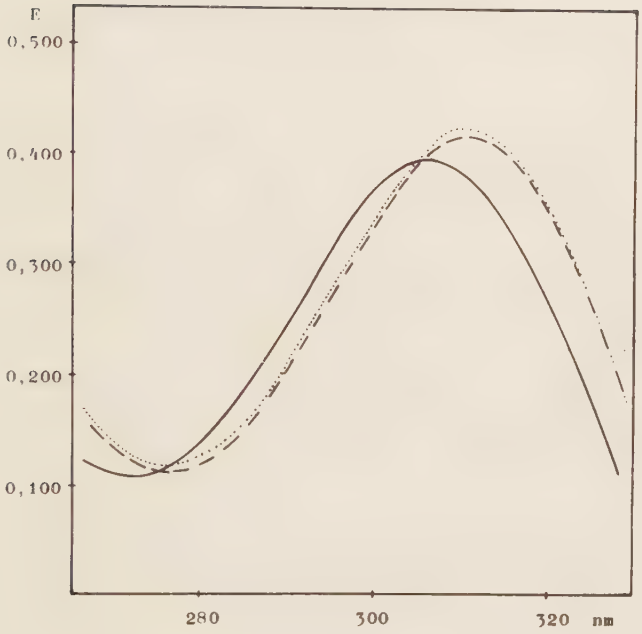


Abb. 24 Verschiebung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester unter dem Einfluß verschiedener nichtionogener Tenside

———— Salicylsäurephenylester (2mg%) in Puferlösung

- - - - - Salicylsäurephenylester (2mg%) in Puferlösung + 0,5 % PÄG-900-sorbitanmonooleat

..... Salicylsäurephenylester (2mg%) in Puferlösung + 0,5 % PÄG-900-sorbitanmonostearat bzw. 0,5 % PÄG-900-stearat

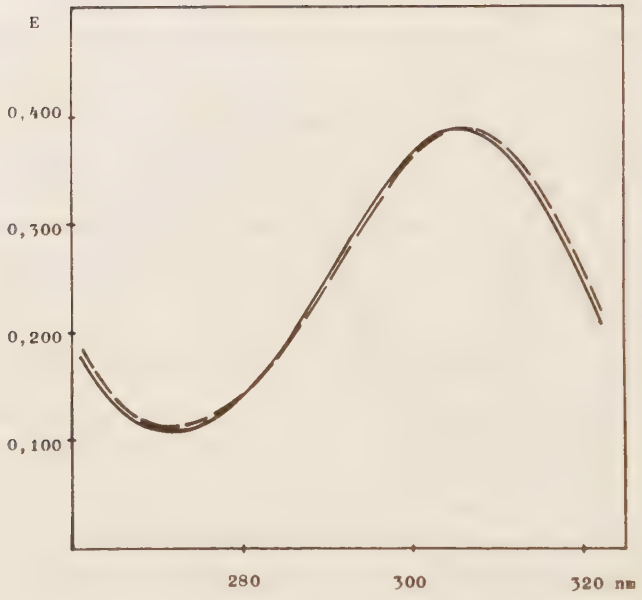


Abb. 25 Verschiebung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester in Abhängigkeit von einer untermizellaren Konzentration an Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat

———— Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung

- - - - - Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung + 0,0036 % PÄG-900-sorbitanmonooleat

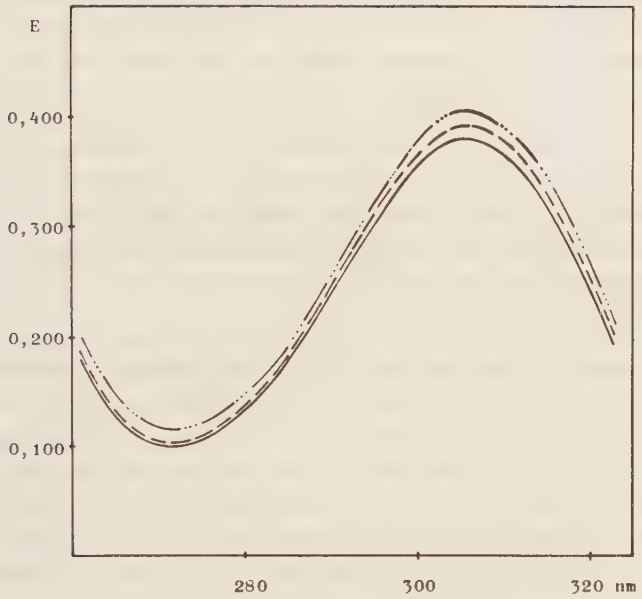


Abb. 26 Verschiebung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester in Abhängigkeit von steigenden Konzentrationen an Polyäthylenglykol 1000

———— Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung

- - - - - Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung + 0,05 % PÄG 1000

___···___ Salicylsäurephenylester (2 mg%) in Pufferlösung + 2 % PÄG 1000

2. Auswirkung der Zersetzung des Arzneistoffes

Lösungen von 2 mg% Salicylsäurephenylester in 0,066 m Phosphatpuffer pH 7,0 mit entsprechenden Hilfsstoffzusätzen werden bis zu 10 Wochen lang bei 20±1°C gelagert. In Abständen von 10 Tagen zeichnet man die Spektren auf. Vergleichslösungen sind für jede Messung frisch herzustellen.

Aus Abb. 27 ist zu erkennen, daß in Gegenwart von Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat im Bereich seiner c_k während 63 Tagen nahezu vollständige Hydrolyse von Salicylsäurephenylester erfolgt. Sekundärreaktionen sind weniger ausgeprägt als im tensidfreien System (Abb. 7).

Der Vergleich der Abb. 27 und 28 zeigt deutlich das abweichende Verhalten von Cetyl-trimethylammoniumbromid. Unter seinem Einfluß findet keine Sekundärreaktion statt. Dies geht daraus hervor, daß das Maximum von Salicylation bei 296 nm nicht abgebaut wird und der Verlauf des Spektrums am 63. Tage nach Herstellung der Lösung dem Modellspektrum einer 100 %igen Zersetzung (Abb. 6) vergleichbar ist. In untermizellarer Konzentration sind die Schulter bei 270 nm und das Maximum bei 277 nm ausgebildet wie im Modell der 100 %igen Zersetzung. Oberhalb der c_k von Cetyl-trimethylammoniumbromid dagegen weist das Spektrum des hydrolytisch gespaltenen Salicylsäurephenylesters nur noch ein Maximum bei 280,5 nm auf (Abb. 11). Neben dem in Abb. 27 und 28 deutlich erkennbaren isosbestischen Punkt bei 263,5 nm tritt bei Cetyl-trimethylammoniumbromid zusätzlich ein solcher bei 296,5 nm in Erscheinung.

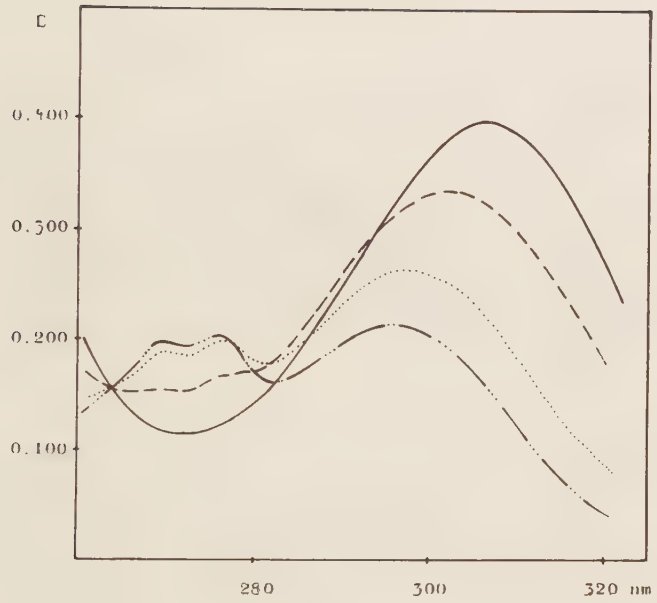


Abb. 27 Veränderung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester in Abhängigkeit von der Lagerungszeit (2 mg % Salicylsäurephenylester, 0,005 % PÄG-900-sorbitanmonooleat, 0,066 m Phosphatpuffer pH 7,0)

———— am Tage der Herstellung
- - - - - nach 10 Tagen
..... nach 30 Tagen
___...___ nach 63 Tagen

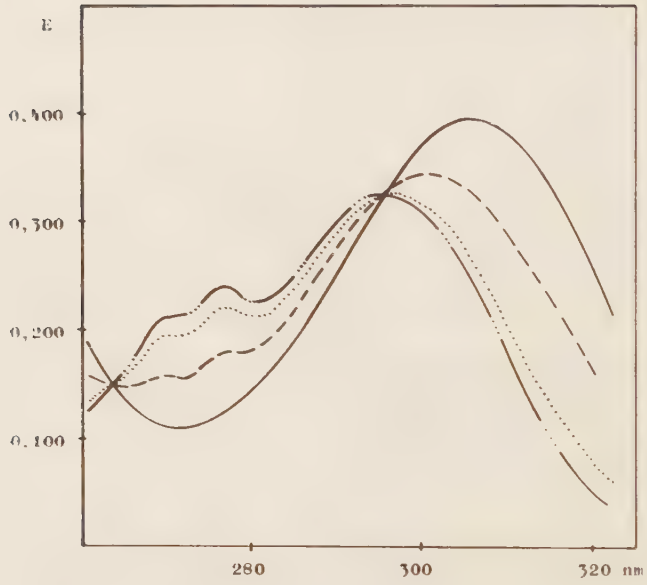


Abb. 28 Veränderung des Absorptionsspektrums von Salicylsäurephenylester in Abhängigkeit von der Lagerungszeit (2 mg% Salicylsäurephenylester, 0,005 % Cetyltrimethylammoniumbromid, 0,066 m Phosphatpuffer pH 7,0)

———— am Tage der Herstellung
- - - - - nach 10 Tagen
..... nach 30 Tagen
___···___ nach 63 Tagen

III. Untersuchung der Stabilität von Salicylsäurephenylester in Gegenwart von Polyäthylenglykol-1400-stearyläther

1. Voraussetzungen

Für die Verwendung bei einem thermisch beschleunigten Stabilitätsversuch werden folgende Bedingungen gestellt: Solubilisationsvermögen der 5 %igen wässerigen Lösung gegenüber Salicylsäurephenylester 400-500 mg%, über 3 bis 4 Wochen klar bleibende Lösung bei 100°C. Aus einer größeren Zahl von Tensiden sind verwendbar: Polyäthylenglykol-1400-stearyläther, Polyäthylenglykol-1000-lauryläther, Polyäthylenglykol-1320-nonylphenoläther und Cetyl-trimethylammoniumbromid.

Als Puffer werden benützt 0,132 m Phosphatpuffer pH 7,0 nach SÖRENSEN und 0,4 m Ammoniumchlorid-Ammoniak-Puffer pH 9,0. Diese Pufferkonzentrationen zeigen ausreichende Kapazität für eine Neutralisation der in ungepufferter Tensidlösung stark ansteigenden Acidität. Gleichzeitig können Ausfällungen durch Herabsetzung des Trübungspunktes bei der Temperierung vermieden werden.

Der verwendete Salicylsäurephenylester (E. MERCK AG, Darmstadt) entspricht den Anforderungen des ÖAB IX. Gehalt 100,4 %.

Als Lösungsvermittler wird herangezogen G 3730® (Polyäthylenglykol-1400-stearyläther der Fa. ATLAS-GOLDSCHMIDT AG, Essen). Tropfpunkt: 40,5°C; Hydroxylzahl: 47,2; c_k in wässeriger Lösung nach P. BECHER (5) = 0,017 %, entsprechend $1{,}02.10^{-4}$ m. Bei Erwärmen der wässerigen Lösung tritt saure Reaktion ein. Als Ursache muß eine durch Erwärmen begünstigte Oxydation von Carbonylverbindungen (2o, 84, 90) angenommen werden.

2. Zersetzungsgeschwindigkeit

428 mg% Salicylsäurephenylester werden in 5 %iger Lösung von Polyäthylenglykol-1400-stearyläther/0,132 m Phosphatpuffer pH 6,9±0,1 durch Temperieren im Wasserbad (ca. 90 Minuten, 50°C) und intensives Schütteln gelöst.

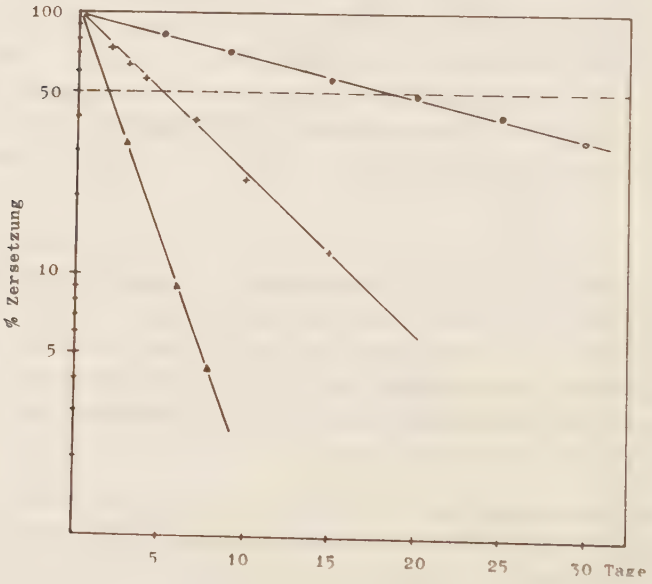


Abb. 29 Verlauf der Hydrolyse von Salicylsäurephenylester (428 mg%) in Anwesenheit von 5 % Polyäthylenglykol-1400-stearyläther, pH 6,9±0,1 (0,132 m Phosphatpuffer)

——▲—— 70°C
——+—— 60°C
——o—— 50°C

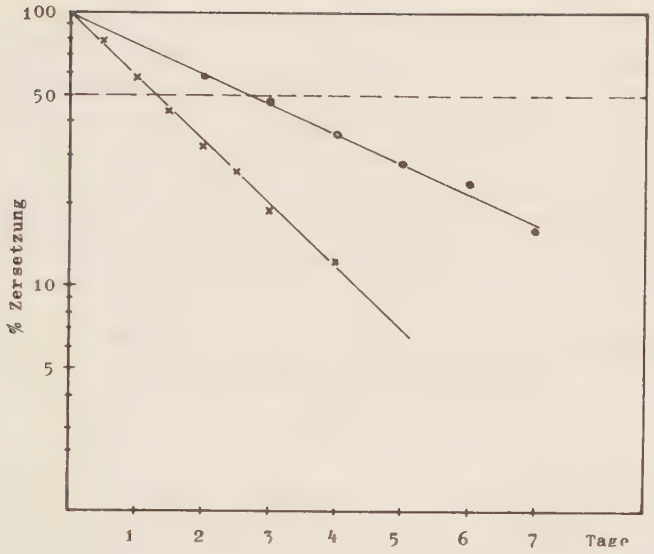


Abb. 30 Verlauf der Hydrolyse von Salicylsäurephenylester (214 mg%) in Anwesenheit von 5 % Polyäthylenglykol-1400-stearyläther, pH 8,9±0,1 (0,4 m Ammoniumchlorid-Ammoniak-Puffer)

——+—— 30°C
——o—— 20°C

Bei Verwendung von NH_4Cl-NH_4OH-Puffer pH 8,9±0,1 löst man den Ester bei 50°C in der nicht gepufferten 10 %igen Tensidlösung und verdünnt nach dem Erkalten mit 0,8 m Pufferlösung auf eine Endkonzentration von 214 mg% Salicylsäurephenylester.

Die Lagerung der in Ampullen abgefüllten Lösung erfolgt in Trockenschränken (Temperaturgenauigkeit bei 50°, 60° und

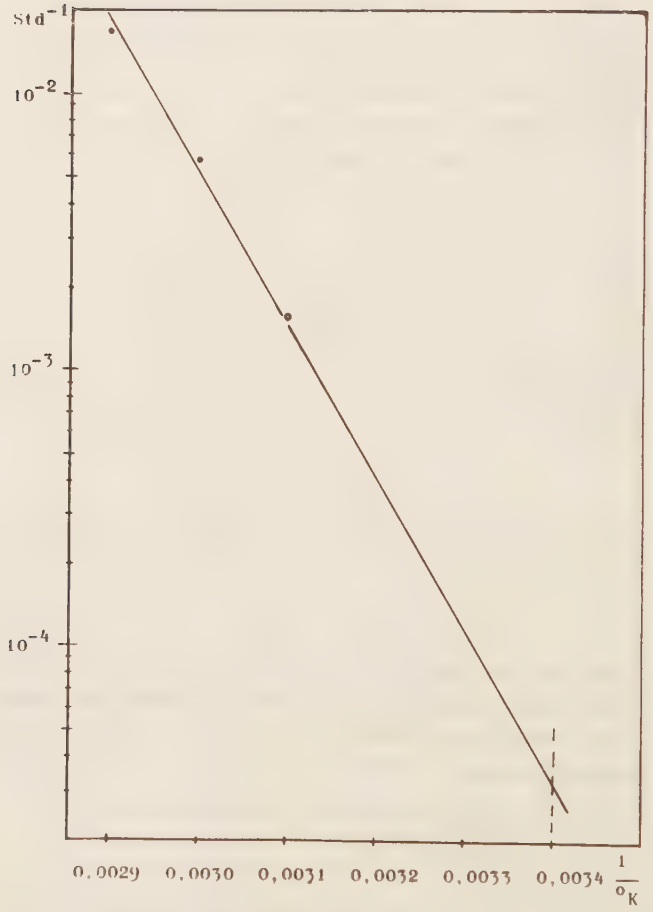


Abb. 31 Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten bei 20°C für die Hydrolyse von Salicylsäurephenylester in Anwesenheit von 5 % Polyäthylenglykol-1400-stearyläther, pH 6,9±0,1 (0,132 m Phosphatpuffer)

70°C: ±1°C, bei 30°C: ±2°C) bzw. in einem auf 20±1°C klimatisierten Raum. Zur quantitativen Auswertung mittels Dünnschichtchromatographie wird je Ampulle 4 bis 5 mal je 50 µl aufgetragen und aus den Ergebnissen ein Mittelwert erstellt. Der aus der Eichkurve (Abb. 22) erhaltene Wert für Salicylsäure ist in "% unzersetzten Salicylsäurephenylesters" umzurechnen. Für die graphische Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten trägt man den Logarithmus der Konzentration an unzersetztem Salicylsäurephenylester gegen die Zeit auf (Abb. 29 und 30).

Nach der ARRHENIUS-Gleichung über die Temperaturabhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten

$$k_I = H \cdot e^{-E_{akt}/RT}$$

können k_I-Werte für jede Temperatur festgelegt werden. Hierbei stellen k_I die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante, H die Aktionskonstante, E_{akt} die Aktivierungsenergie, R die allgemeine Gaskonstante und T die absolute Temperatur dar. In Abb. 31 wird die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante bei 20°C aus den logarithmischen Werten der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten bei 50°, 60° und 70°C graphisch bestimmt.

IV. Ermittlung des Solubilisationsvermögens von nichtionogenen Tensiden

Aussagen über das Solubilisationsvermögen eines Tensides können durch zwei Methoden erzielt werden: Bei der Löslichkeitstitration wird ein Gemisch aus Solvend und Lösungsvermittler mit Wasser bis zur Löslichkeitsgrenze titriert (71). Bei der Sättigungsbestimmung ermittelt man das Lösungsgleichgewicht in einer vorgegebenen wässerigen Tensidlösung mit einem Überschuß an Solvend. Beim Vergleich

beider Methoden sind Abweichungen der Ergebnisse möglich (36).

Zur Bestimmung des Lösungsvermögens grenzflächenaktiver Substanzen gegenüber Salicylsäurephenylester füllt man in 150 ml Glasflaschen mit Schliffstopfen je 50 ml einer 5 %igen wässerigen Lösung eines Tensides mit einem Überschuß des Solvenden ein. Diese Ansätze werden unter oftmaligem Umschütteln 4 Stunden lang im Trockenschrank bei 70°C und anschließend 4 Tage lang bei 20°C temperiert +).

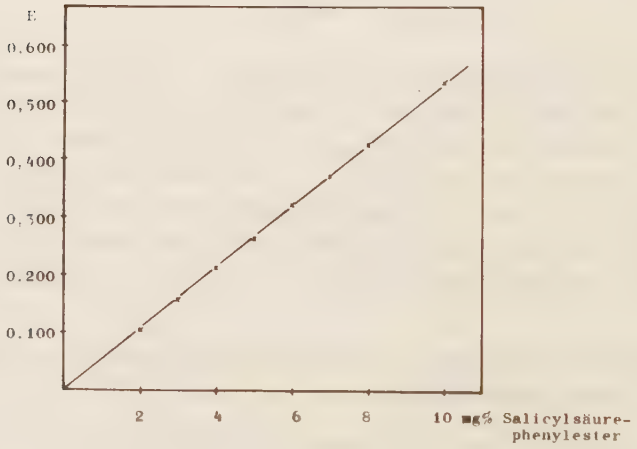


Abb. 32 Eichkurve zur spektralphotometrischen Bestimmung von Salicylsäurephenylester in Gegenwart von polyäthylenglykolhaltigen Lösungsvermittlern (λ = 277 nm)

+) Eine Zersetzung während dieser Zeit kann ausgeschlossen werden (S. 21 ff).

Die Abtrennung des Ungelösten erfolgt in einer Hochtourenzentrifuge (Modell L, Beckman-Spinco, Fa. BECKMAN INSTRUMENTS, München) während 4o Minuten bei einer mittleren Zentrifugalkraft von 15.000 g. Ansätze, welche bei weiterem 8tägigem Stehen bei 20°C Nachfällungen zeigen, sind von der Weiteruntersuchung auszuschließen.

Der Gehalt an gelöstem Salicylsäurephenylester wird unmittelbar nach Verdünnen mit Wasser spektralphotometrisch ermittelt (Spektralphotometer PM QII, Fa. C. ZEISS, Oberkochen; Quarzküvetten, Schichtdicke 1 cm; λ = 277 nm). Hierbei befindet sich in der Vergleichsküvette dieselbe Konzentration an Lösungsvermittler wie in der Meßküvette. Die Auswertung des erhaltenen Extinktionswertes erfolgt über die in Abb. 32 wiedergegebene Eichkurve.

Bei der Bestimmung der Sättigungskonzentrationen für 5 %ige wässerige Lösungen von Polyäthylenglykol-Stearaten und Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonofettsäureestern gegenüber Salicylsäurephenylester ergeben sich die in Tab. 6, Spalte S_1 verzeichneten Mittelwerte aus je 3 Bestimmungen.

Die gelöste Menge Salicylsäurephenylester wird in Spalte S_2 in Mol/l angegeben. Die Tensidkonzentration 5 % (T_1) ist nach F.W.GOODHART und A.N.MARTIN (30) umgeformt in Mol/l (T_2) und Äquivalente Äthylenoxid/l (T_4). Entsprechend kann man bei den Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonofettsäureestern hinsichtlich der Fettsäurekettenlänge verfahren.

Zur Auswertung der Sättigungskonzentrationen werden folgende Quotienten gebildet:

S_4/T_2: Mol Salicylsäurephenylester in mizellarer Lösung je Mol Tensid

S_4/T_4: Mol Salicylsäurephenylester in mizellarer Lösung je Äquivalent $-C_2H_4O-$ bzw. $-CH_2-$

Art der Polyäthylenglykolderivate			konzentration an							
			Polyäthylenglykolderivat						solubilisiertem Salicylsäurephenylester	
PÄG verestert (verätherth) mit	Mol.-Gew.		%	Mol/l	% PÄG	% Kohlenwasserstoff	Äquivalente ÄG/Liter	Äquivalente - CH_2 - der Fettsäurekette/Liter	mg %	Mol/l
	Ester	PÄG-Anteil	(T_1)	(T_2)	(T_3)	(T_3)	(T_4)	(T_4)	(S_1)	(S_2)
Stearinsäure	1180	900	5	$4,2 \cdot 10^{-2}$	3,75		0,85		509	$2,38 \cdot 10^{-2}$
Stearinsäure	1630	1350	5	$3,1 \cdot 10^{-2}$	4,0		0,91		432	$2,02 \cdot 10^{-2}$
Stearinsäure	2080	1800	5	$2,4 \cdot 10^{-2}$	4,23		0,96		386	$1,80 \cdot 10^{-2}$
Stearinsäure	2280	2000	5	$2,2 \cdot 10^{-2}$	4,48		1,02		337	$1,58 \cdot 10^{-2}$
Stearinsäure	4980	4700	5	$1,0 \cdot 10^{-2}$	4,70		1,07		147	$0,69 \cdot 10^{-2}$
Sorbitanmonolaurat	1270	900	5	$4,0 \cdot 10^{-2}$		0,61		0,44	370	$1,73 \cdot 10^{-2}$
Sorbitanmonopalmitat	1325	900	5	$3,8 \cdot 10^{-2}$		0,80		0,57	497	$2,32 \cdot 10^{-2}$
Sorbitanmonostearat	1355	900	5	$3,7 \cdot 10^{-2}$		0,88		0,63	595	$2,78 \cdot 10^{-2}$
Sorbitanmonooleat	1350	900	5	$3,7 \cdot 10^{-2}$		0,88		0,63	876	$4,09 \cdot 10^{-2}$

Tab. 6 Abhängigkeit des Solubilisationsvermögens von den hydrophilen und lipophilen Komponenten nichtionogener Tenside

Tab. 6 stellt die Berechnungsunterlagen für die im theoretischen Teil befindliche Tab. 1 dar (siehe S.4).

Erläuterungen zu Tab. 6:

T_1 Konzentration an Tensid in %

T_2 Konzentration an Tensid in Mol je Liter

T_3 Konzentration an Tensid in % Polyäthylenglykol- bzw. Kohlenwasserstoffanteil

T_4 Konzentration an Tensid in Äquivalenten $-C_2H_4O-$ bzw. $-CH_2-$ je Liter

S_1 Gesamtkonzentration an gelöstem Salicylsäurephenylester in mg%, bezogen auf 5 %ige Tensidlösung

S_2 Gesamtkonzentration an gelöstem Salicylsäurephenylester in Mol je Liter, bezogen auf 5 %ige Tensidlösung

S_3 Löslichkeit von Salicylsäurephenylester in Wasser

S_4 Konzentration an mizellar gelöstem Salicylsäurephenylester in Mol je Liter, bezogen auf 5 %ige Tensidlösung ($S_4 = S_2 - S_3$)

Die Molekulargewichte sind nach Angaben des Herstellers errechnet (2). Die Gewichte der Polyäthylenglykolkomponenten müssen als Mittelwerte für Gemische verschiedener Polymerisationsstufen verstanden werden (82).

Wegen kolloidaler Trübung wurde Polyäthylenglykol-1350-stearat zweimal 40 Minuten lang bei einer mittleren Schwerkraft von 15.000 g, Polyäthylenglykol-1800-stearat 20 Minuten lang bei einer mittleren Schwerkraft von 41.000 g zentrifugiert.

V. Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration (c_k)

In der Regel werden c_k-Angaben für rein wässerige Lösungen des Mizellbildners gemacht. Nach Sättigung einer Tensidlösung mit einem Solubilisat können sich jedoch stark abweichende Werte ergeben (30, 56).

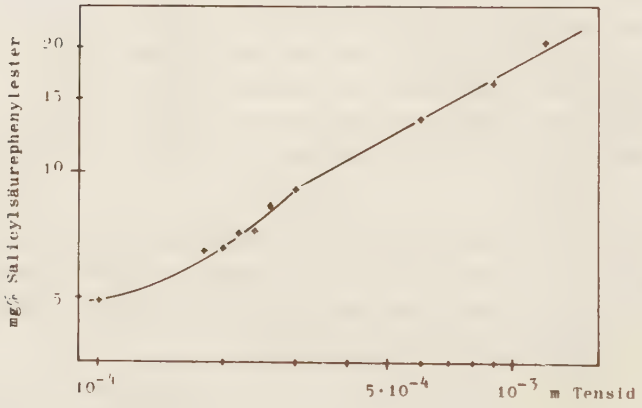


Abb. 33 Ermittlung der c_k von Polyäthylenglykol-4700-stearat durch Bestimmung des Solubilisationsvermögens gegenüber Salicylsäurephenylester

In 150 ml Glasflaschen mit Schliffstopfen werden 50 ml von Lösungen mit 0,05 - 5 % Tensid und Salicylsäurephenylester im Überschuß während 72 Stunden bei 25°C in einem Schütttelthermostaten gesättigt. Die gelöste Menge Salicylsäurephenylester bestimmt man nach Filtration spektralphotometrisch.

Als c_k definiert ist diejenige Konzentration des Tensides, bei welcher sich die Steigung der Kurve ändert und konstant wird (Abb. 33: logarithmische Auftragung der solubilisierten Menge an Salicylsäurephenylester gegen logarithmische Auftragung der Konzentration an Tensid).

Wie in Abb. 34 gezeigt werden kann, ist oberhalb der c_k (= $2 \cdot 10^{-3}$ m) die Beziehung zwischen Logarithmus der Solubilisation und Logarithmus der Konzentration linear (51, 91).

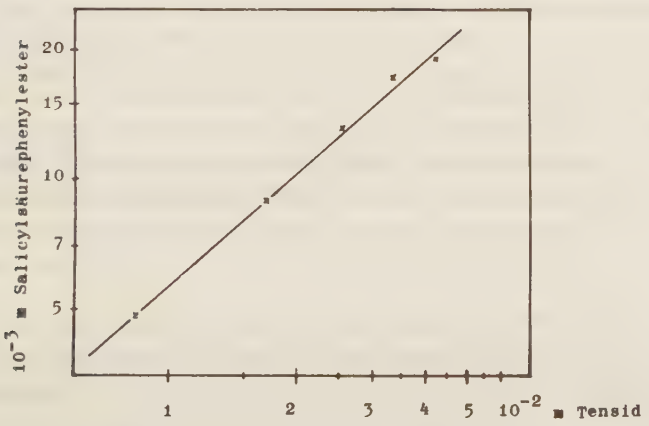


Abb. 34 Abhängigkeit des Solubilisationsvermögens gegenüber Salicylsäurephenylester von der Konzentration an Polyäthylenglykol-900-stearat

Die nach der Solubilisationsmethode ermittelten c_k-Werte für nichtionogene Mizellbildner sind in Tab. 7 zusammengestellt.

Eine weitere Möglichkeit für die Ermittlung der c_k besteht darin, die Veränderung der Oberflächenspannung bei steigender Tensidkonzentration zu verfolgen.

Art des Polyäthylenglykolderivates		c_k	
PÄG verestert (veräthert) mit	Mol.-Gew. des PÄG-Anteils	Oberflächenspannungsmethode	Solubilisationsmethode
Stearinsäure	900	0,25 %=$2{,}1 \cdot 10^{-3}$ m	0,2 - 0,6 %
Stearinsäure	2000	0,15 %=$6{,}3 \cdot 10^{-4}$ m	0,18 %=$7{,}9 \cdot 10^{-4}$ m
Stearinsäure	4700	0,14 %=$2{,}6 \cdot 10^{-4}$ m	0,15 %=$3{,}0 \cdot 10^{-4}$ m
Sorbitanmonooleat	900	0,055 %=$4 \cdot 10^{-4}$ m	0,046 %=$3{,}4 \cdot 10^{-4}$ m

Tab. 7 Abhängigkeit der c_k-Werte vom chemischen Bau des Lösungsvermittlers (Bestimmung nach der Solubilisations- und Oberflächenspannungsmethode; wässerige Tensidlösungen, gesättigt an Salicylsäurephenylester)

Die Oberflächenspannung der mit Salicylsäurephenylester gesättigten Lösungen bestimmt man bei 25°C mit dem Interfacial-Tensiometer nach Lecompte de NOUY (Modell K 8600, Fa.KRÜSS, Hamburg). Die Messung wird dabei mit jeweils frisch ausgeglühtem Ring so oft wiederholt, bis sich 5 gleichbleibende Werte ergeben.

Als c_k gilt die Konzentration, bei welcher sich die Steigung der Geraden ändert, die bei Auftragung der Oberflächenspannung gegen den Logarithmus der Tensidkonzentration entsteht (Abb. 35).

Ausgedrückt in Mol/l fallen die c_k-Werte des gesättigten Systems mit steigender Polyäthylenglykolkettenlänge. Sie liegen stets etwa eine Zehnerpotenz höher als die für die reinen Tensidlösungen vom Hersteller (2) angegebenen Werte.

Da Polyäthylenglykolderivate herstellungsbedingt eine breite Homologenverteilung (52, 82, 90, 98) besitzen und vor allem freies Polyäthylenglykol (17, 29, 65, 69, 77, 82, 98) und Elektrolyte (84) als Verunreinigungen enthalten, sind Aussagen über die c_k mit erheblichen Fehlermöglichkeiten belastet. Für Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat (Polysorbat 80 USP) in wässeriger Lösung werden beispielsweise in der Literatur c_k-Werte von 0,001 % bis 0,3 % bei gleicher Methode (Oberflächenspannungsmessung) angegeben (2, 96, 97).

Über die Veränderungen der c_k bei der Solubilisation bestehen vielfach widersprechende Auffassungen (46, 61). Auf jeden Fall ist zu unterscheiden zwischen der c_k des Tensides in wässeriger Lösung, der des ternären Gemisches Tensid/Solubilisat/Wasser und dem eigentlichen Solubilisationsbeginn (56).

Bei der Solubilisation von Salicylsäurephenylester sowie auch von Benzoesäure (30) und von Benzaldehyd (56) liegen die c_k der ternären Gemische deutlich über den c_k der reinen Tensidlösungen (Bestimmungen nach der Oberflächenspannungsmethode).

Beziehungen zwischen c_k und Polarität des Solubilisates scheinen nicht zu bestehen (46, 64).

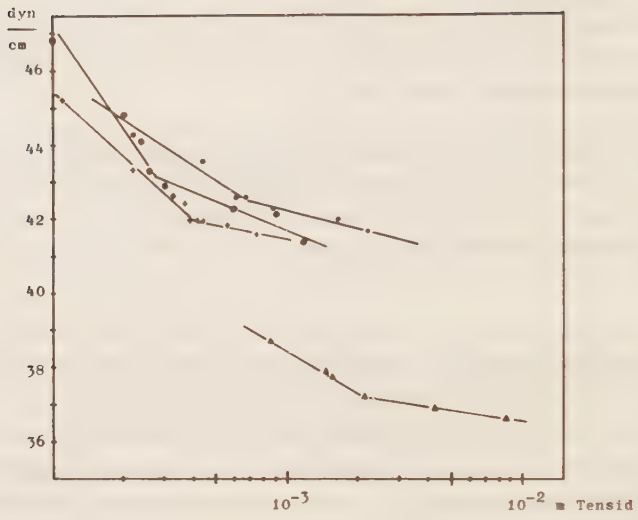


Abb. 35 Ermittlung der c_k von Polyäthylenglykolderivaten durch Bestimmung der Oberflächenspannung (wässerige Lösungen, gesättigt an Salicylsäurephenylester)

—x— PÄG-900-sorbitanmonooleat
—Δ— PÄG-900-stearat
—•— PÄG-2000-stearat
—o— PÄG-4700-stearat

Aus den beschriebenen Untersuchungen (Tab. 7) geht hervor, daß in der Reihe der homologen Polyäthylenglykol-Stearate bei Solubilisation von Salicylsäurephenylester die c_k mit steigender Polyäthylenglykolkettenlänge sinkt. Der Hersteller gibt auch für die reinen Tensidlösungen ein entsprechendes Verhalten an, während nach der Literatur ein Ansteigen der c_k-Werte zu erwarten wäre (4, 22, 48, 64).

Diese Befunde wurden allerdings an Derivaten mit 1-30 Äthylenoxideinheiten gewonnen, während für die Solubilisation von Salicylsäurephenylester Polyäthylenglykol-Stearate mit einem Polyäthylenglykolanteil von 20 bis 110 Äthylenoxideinheiten zur Anwendung kamen. Ein abweichendes Verhalten ist aus dem zunehmend polymerartigen Charakter der Hilfsstoffe (91) erklärlich.

VI. Dünnschichtchromatographische Untersuchung von Polyäthylenglykolderivaten und Polyäthylenglykolen

1. Durchführung

a. Beschichtung der Dünnschichtplatten

25 g Kieselgel G und 45 g Wasser werden mit Hilfe eines Streichgerätes (Fa.DESAGA, Heidelberg) in 0,25 mm dicker Schicht auf 5 Platten 20 x 20 cm aufgetragen und 45 Minuten lang bei 110°C aktiviert.

b. Auftragung

Die Auftragung erfolgt 1,5 cm von der Unterkante der Platte entfernt in folgenden Konzentrationen:

5-10 γ der Polyäthylenglykole zu 0,2 bzw. 0,5 % in Methanol gelöst für Fließmittel I

20-50 γ der einfachen Polyäthylenglykolderivate zu 2 % in Methanol gelöst und

100 γ der Polyäthylenglykol-Sorbitanester zu 2 % in Methanol gelöst für Fließmittel II

100-150 γ der einfachen Polyäthylenglykolderivate zu 2 % in Methanol gelöst und

200-300 γ der Polyäthylenglykol-Sorbitanester zu 2 % in Methanol gelöst für Fließmittel III

400 γ der Polyäthylenglykolderivate zu 2 % in Methanol gelöst für die zweidimensionale Chromatographie mit den Fließmitteln II und III

70 γ des einzelnen Polyäthylenglykol-Stearates zu 2 % in Methanol gelöst für die Trennung eines Gemisches durch zweidimensionale Chromatographie mit den Fließmitteln II und I.

c. Entwicklung

Fließmittel:

I : Chloroform/Methanol/Wasser 3:25:12

II : n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % 14:3:5

III: wassergesättigtes Äthylmethylketon (17)

Einfache aufsteigende Chromatographie:

Laufhöhe: 15 cm bei Kammersättigung in einem Glastrog (21 x 21 x 9 cm) mit plangeschliffenem Deckel; Eintauchhöhe der Platte in das Fließmittel: 6-8 mm.

Durchlaufende Dünnschichtchromatographie:

Verwendung findet die "BN-Kammer" (14) (Fa.DESAGA, Heidelberg). Die Laufzeit des Fließmittels beträgt 1-10 Stunden (siehe Abb. 36); Temperatur des Heizblockes bei Verwendung der mobilen Phase wassergesättigtes Äthylmethylketon: 40°C, bei weniger flüchtigen Lösungsmitteln höher; Kühlung durch Leitungswasser.

Zweidimensionale Chromatographie:

Der Auftragungspunkt liegt in einer Ecke der Platte je 2,5 cm von den Rändern entfernt. An den dem Auftragungspunkt abgewandten Seiten der Platte läuft i.a. auf je einem 1,5 cm breiten Streifen die gleiche Substanz als normales eindimensionales Vergleichschromatogramm mit. Bei Abb. 14, 15 und 41 wird zur Verdeutlichung des Trennvorganges das Vergleichschromatogramm I unterhalb des Auftragungspunktes wiedergegeben.

d. Identifizierung

Polyäthylenglykole und Polyäthylenglykolderivate
modifiziertes DRAGENDORFF-Reagens (17)

Polyäthylenglykolderivate
0,005 n Jodlösung (siehe Abb. 38)
Jod-Stärke-Reagens (66) (siehe Abb. 37)

Sorbit
Bleitetraazetat (7) (siehe Abb. 38)

Fettsäuren
Rhodamin B/10 n KOH (in 50 %igem Methanol) (1)
(siehe Abb. 39)

Die Anfärbung durch modifiziertes DRAGENDORFF-Reagens erfolgt für freie Polyäthylenglykole und höhermolekulare Oxäthylate mit tiefroter, bei abnehmendem Oxäthylierungsgrad nur noch orangeroter und schließlich orangegelber Farbe auf gelbem Grund. Polyäthylenglykole und deren Derivate werden auch durch Besprühen mit Rhodamin B/KOH erkennbar als weiße, etwas verwaschene Flecken auf blaßrosa Grund (Abb. 39); bei 366 nm erscheinen dieselben blaßblau auf sattblauem Grund.

Bleitetraazetat ergibt positive Reaktion mit Sorbitanestern, nicht aber mit Polyäthylenglykol-Sorbitanestern (Abb. 38).

Der angegebene Nachweis für Fettsäuren in Tensiden ist in starkem Maße abhängig von dem Mengenverhältnis zwischen Polyäthylenglykol-Ester und freier Fettsäure. Abb. 39 zeigt Beispiele, bei welchen Stearinsäure neben verschiedenen Polyäthylenglykol-Stearaten noch gut nachweisbar ist.

e. Alkalische Spaltung von Polyäthylenglykol-Estern

1,0 g Polyäthylenglykol-Ester wird mit 5 ml Wasser und 5 ml 2 n KOH bis zum Klarwerden erhitzt, die abgekühlte Lösung mit 5 ml 2 n methanolischer HCl versetzt, die erhaltene Mischung in 10 ml Chloroform und 25 ml Methanol gelöst. Diese Lösung trägt man direkt auf.

2. Untersuchungen zur Arbeitsmethodik, Beispiele für ihre Anwendung

a. Durchlaufzeit

Abb. 36 zeigt, daß auch bei langdauernder Durchlaufchromatographie der Anteil höhermolekularer Polymerisationsstufen (Oxäthylierungsgrad über 20) durch wassergesättigtes Äthylmethylketon nicht mehr aufgespalten wird. Dagegen beginnt der Polyäthylenglykolanteil des Molekulargewichtsbereiches um 900 bei 10stündiger Chromatographie vom Startpunkt abzuheben.

b. Identifizierung

Die Untersuchungen nach Abb. 37 beinhalten die experimentellen Unterlagen für die auf S.31 dargestellten Befunde: Zur Identifizierung der hauptsächlichen Homologen muß bei Verwendung von DRAGENDORFF-Reagens die Auftragsmenge auf etwa 1/10 reduziert werden; das wenig empfindliche Jod-Stärke-Reagens erlaubt die Kennzeichnung der Hauptkomponenten bei normaler Auftragsmenge.

c. Alkalische Hydrolyse

Abb. 38 stellt dar das Ergebnis der alkalischen Hydrolyse von Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat unter Heranziehung verschiedener Nachweisreagentien und ent-

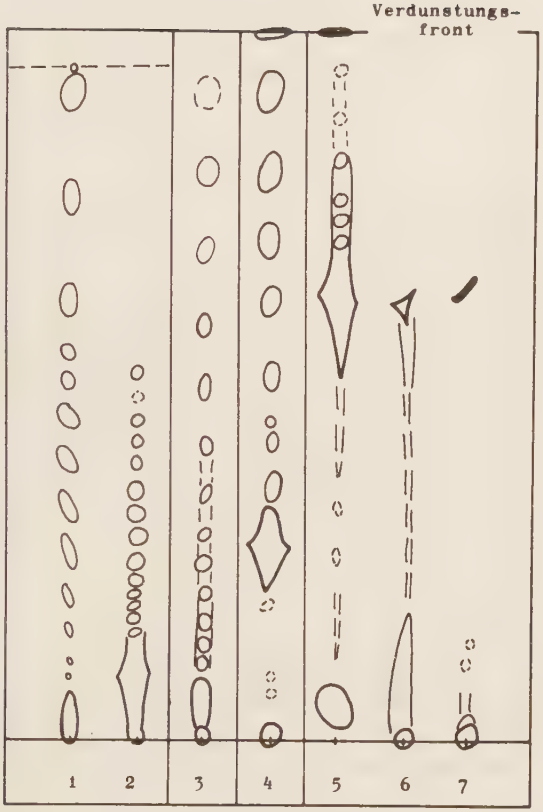
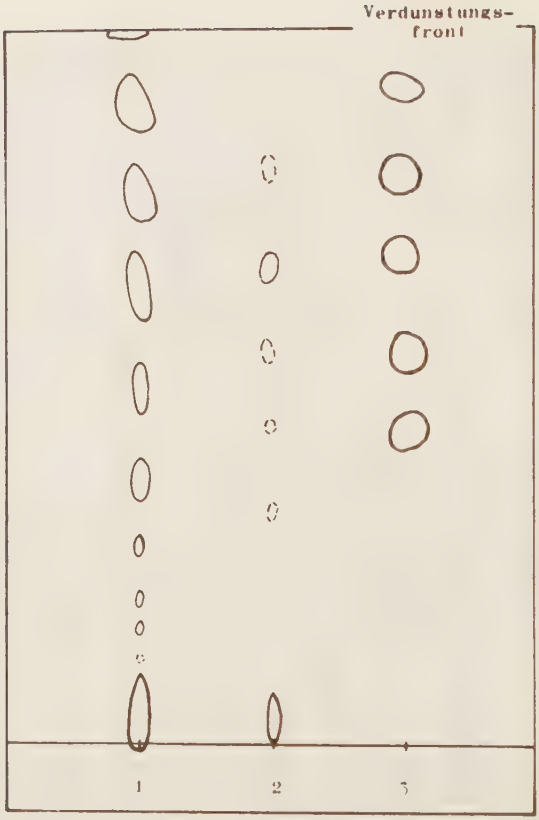


Abb. 36 Einfluß der Durchlaufzeit auf das chromatographische Verhalten von Polyäthylenglykol-Stearaten (wassergesättigtes Äthylmethylketon)

1 : Polyäthylenglykol- 400-stearat, 1 Stunde
2 : Polyäthylenglykol- 900-stearat, 1 Stunde
3 : Polyäthylenglykol- 900-stearat, 3 Stunden
4 : Polyäthylenglykol- 900-stearat, 5 Stunden
5 : Polyäthylenglykol- 900-stearat, 10 Stunden
6 : Polyäthylenglykol-2000-stearat, 10 Stunden
7 : Polyäthylenglykol-4700-stearat, 10 Stunden



bb. 37 Nachweis der Hauptkomponenten in Polyäthylenglykol-400-stearat durch Reduzierung der Auftragungsmenge und Besprühen mit Jod-Stärke-Reagens (wassergesättigtes Äthylmethylketon)

1 : 200 γ PÄG-400-stearat; modifiziertes DRAGENDORFF-Reagens

2 : 20 γ PÄG-400-stearat; modifiziertes DRAGENDORFF-Reagens

3 : 200 γ PÄG-400-stearat; Jod-Stärke-Reagens

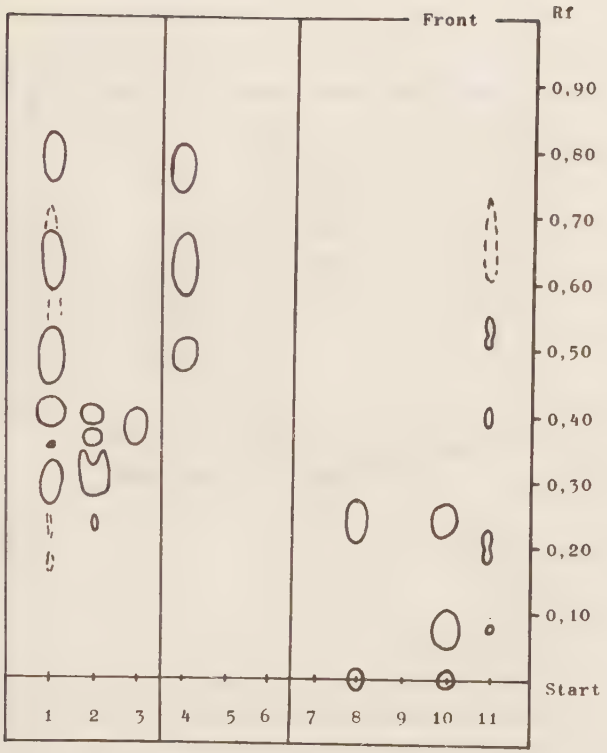


Abb. 38 Nachweis der Zersetzungsprodukte von Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat nach alkalischer Hydrolyse
(n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % 14:3:5)
Nachweis: 1-3: modifiziertes DRAGENDORFF-Reagens
4-6: 0,005 n Jodlösung
7-11: Bleitetraazetat

1,4,7: Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat
2,5,8: alkalisches Hydrolysat aus Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat
3,6,9: Polyäthylenglykol 1000
10: Sorbit, alkalisch behandelt wie bei der Hydrolyse des Esters
11: Sorbitanmonostearat

Abb. 39 Nachweis von Stearinsäure in Gegenwart von Polyäthylenglykol-Stearaten
(n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % 14:3:5)

1 : 2 γ Stearinsäure
2 : 5 γ Stearinsäure
3 : 12 γ Stearinsäure neben 200 γ PÄG- 400-stearat
4 : 5 γ Stearinsäure neben 200 γ PÄG- 900-stearat
5 : 10 γ Stearinsäure neben 200 γ PÄG-2000-stearat
6 : 12 γ Stearinsäure neben 200 γ PÄG-4700-stearat

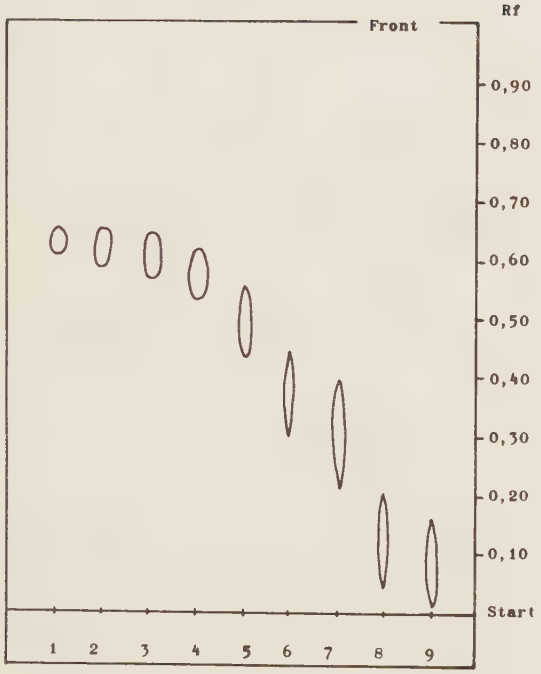


Abb. 40 Chromatographisches Verhalten der Polyäthylenglykole 200 bis 6000
(Chloroform/Methanol/Wasser 3:25:12)

1 : PÄG 200
2 : PÄG 300
3 : PÄG 400
4 : PÄG 600
5 : PÄG 1000
6 : PÄG 1500
7 : PÄG 2000
8 : PÄG 4000
9 : PÄG 5/6000

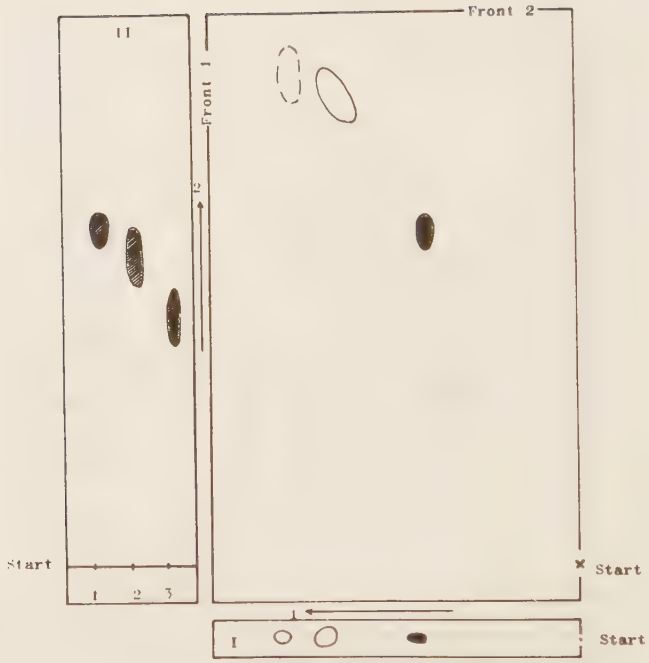


Abb. 41 Identifizierung des Polyäthylenglykolderivates "G 2127" durch zweidimensionale Chromatographie +)
(Fließrichtung 1: n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 % 14:3:5;
Fließrichtung 2: Chloroform/Methanol/Wasser 3:25:12)

1 : PÄG 400
2 : PÄG 600
3 : PÄG 1000

+) Die aus freien Polyäthylenglykolen bestehenden Komponenten sind durch Schraffierung gekennzeichnet.

sprechender Vergleichssubstanzen. Tensidkomponenten (durch 0,005 n Jodlösung erkennbar; Chromatogramm 4) sind nach der Verseifung nicht mehr vorhanden (Chromatogramm 5). Nachweisen lassen sich mit Hilfe von modifiziertem DRAGENDORFF-Reagens freies Polyäthylenglykol und andere Komponenten des Rf-Bereiches 0,15-0,45 (Chromatogramm 2; siehe S.29). Mit Bleitetraazetat lassen sich Sorbitanteile erst nach Hydrolyse des Esters nachweisen (Chromatogramm 7, 8). Ferner ist im alkalischen Hydrolysat Fettsäure durch Rhodamin B zu identifizieren (Abb. 39).

d. Identifizierung von Polyäthylenglykolen in Polyäthylenglykolderivaten

Die Differenzierungsmöglichkeiten für homologe Polyäthylenglykole sind auf Grund ihrer technischen Herstellung begrenzt (Abb. 40; siehe dazu auch S.29). Der mittlere Fehler bei der Festlegung der Rf-Werte aus 8 Einzelbestimmungen beträgt f_m = 0,02-0,03 Rf-Einheiten.

Wie aus Abb. 41 hervorgeht, läßt sich sowohl die Art des Polyäthylenglykolderivates (Ester oder Äther) als auch das Molekulargewicht des Anteils an freiem Polyäthylenglykol bei dem Handelsprodukt G 2127 ® durch zweidimensionale Chromatographie bestimmen. Das Vergleichschromatogramm I ergibt die Zuordnung zur Gruppe der Polyäthylenglykol-Ester (Abb. 12); Vergleichschromatogramm II legt den Anteil an freiem Polyäthylenglykol mit dem Molekulargewicht von 500-600 fest.

3. Chromatographisches Verhalten in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der mobilen Phase

a. Phenolderivate

Bei der Dünnschichtchromatographie der Phenylcarbonsäuren tritt, wie Abb. 21 zeigt, ein Absinken der Rf-Wer-

te ein von Benzoesäure über Salicylsäure zu den Dihydroxyphenylcarbonsäuren, welche ihrerseits verstärkte Sorption erfahren in der Reihenfolge: γ-Resorcylsäure, Gentisinsäure und Protocatechusäure. Darin bestätigen sich die Gesetzmäßigkeiten über das Wanderungsverhalten von Benzolderivaten im Dünnschichtchromatogramm (39, 40, 73, 75). Dieselben Regeln bestimmen die Differenzierung von Phenol, Salicylsäure und Salicylsäurephenylester nach Abb. 18.

b. Polyäthylenglykole

Obwohl eine Differenzierung homologer Polyäthylenglykole durch ihre sehr ähnlichen chemischen Eigenschaften erschwert wird, können in bestimmten Mischungsbereichen geeigneter Fließmittelsysteme Trenneffekte erzielt werden (Abb. 42, 43).

Während im lipophilen Bereich des Systems Chloroform/Methanol/Wasser (zwischen 20 und 33 % Chloroform) die Desorption der weniger hydratisierten und damit lipophileren höheren Homologen begünstigt ist, werden diese im hydrophileren Bereich (weniger als 20 % Chloroform) wesentlich schlechter desorbiert. In den Bereichen von 33 und 18 % Chloroform zeigen alle Polyäthylenglykole gleiches Wanderungsverhalten und annähernd gemeinsame Rf-Werte ("Wendepunkte" der Kurvenschar).

Da sich die Desorption der stärker hydratisierten niedermolekularen Polyäthylenglykole bei Veränderung des beschriebenen Systems nur geringfügig ändert, ergeben sich im hydrophileren Bereich die besseren Differenzierungsmöglichkeiten (Abb. 42).

Ähnliche Gesetzmäßigkeiten bestimmen das chromatographische Verhalten der Polyäthylenglykole im Fließmittelsystem Chloroform/Methanol (Abb. 43).

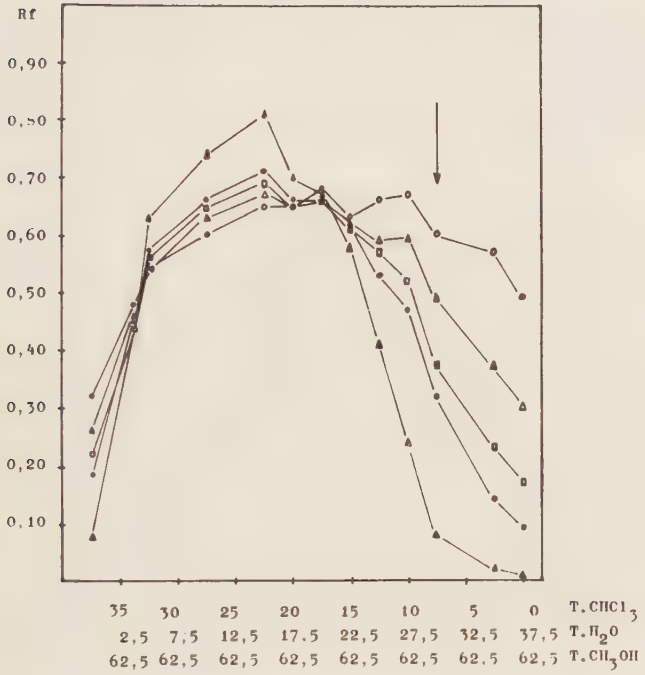


Abb. 42 Rf-Werte von Polyäthylenglykolen bei Veränderung der mobilen Phase Chloroform/Methanol/Wasser +), ++)

—o— PÄG 400
—Δ— PÄG 1000
—□— PÄG 1500
—•— PÄG 2000
—▲— PÄG 5/6000

+) Die angegebenen Rf-Werte sind Durchschnittswerte aus 4 bis 5 Bestimmungen.

++) Der Pfeil bezeichnet das zur Untersuchung ausgewählte Mischungsverhältnis 3:25:12.

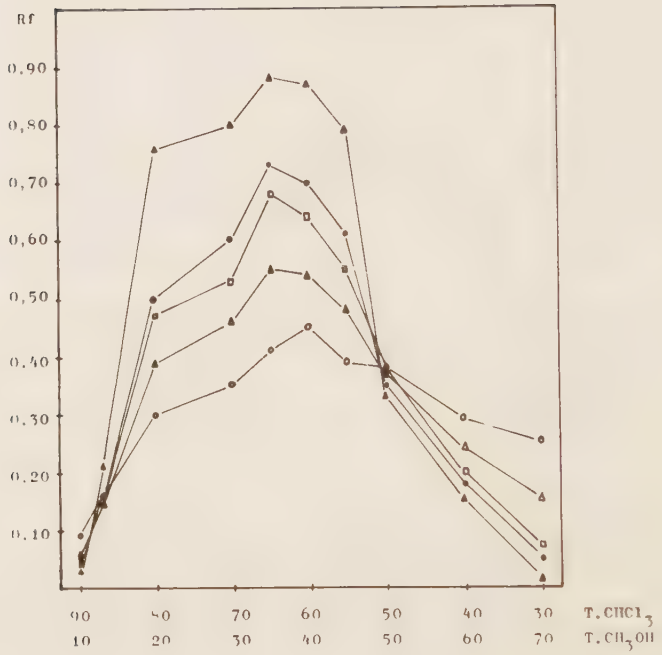


Abb. 43 Rf-Werte von Polyäthylenglykolen bei Veränderung der mobilen Phase Chloroform/Methanol +)

—o— PÄG 400
—Δ— PÄG 1000
—□— PÄG 1500
—•— PÄG 2000
—▲— PÄG 5/6000

+) Die angegebenen Rf-Werte sind Durchschnittswerte aus 4 bis 5 Bestimmungen.

Die Wendepunkte treten in diesem System bei einem Gehalt von 87 % sowie von 50 % Chloroform auf; sie sind somit gegenüber dem Fließmittelsystem Chloroform/Methanol/Wasser zum lipophileren Bereich hin verschoben. Die dabei allen Polyäthylenglykolen gemeinsamen Rf-Werte liegen tiefer als im Vergleichssystem (Abb. 42).

Die Differenzierung homologer Polyäthylenglykole kann erklärt werden mit der relativen Abnahme des Oxonierungsgrades (34, 86, 86a), welche zu einer Verminderung hydrophiler Eigenschaften führt. In Zusammenhang mit der unterschiedlichen Hydratisierung der Polyäthylenglykole kann eine Beeinflussung der Wasserstoffbrückenbindung zwischen den Silanolgruppen der Sorptionsschicht (37, 100) und den Ätherbrücken der Polyäthylenglykole angenommen werden. Für die Ausbildung der Wendepunkte dürften die dielektrischen Eigenschaften von Schichtmaterial, Polyäthylenglykol und mobiler Phase unter Berücksichtigung des COEHN'schen Ladungsgesetzes, die Kapillaraktivität von Substanz und Fließmittel sowie die Oberflächenstruktur des Sorptionsmittels von Bedeutung sein (37, 41, 63, 70).

c. Polyäthylenglykolderivate

Die Beziehungen zwischen dem Differenzierungsvermögen von Fließmittelsystemen und den physikalisch-chemischen Eigenschaften der untersuchten Polyäthylenglykolderivate lassen sich auf Grund folgender Befunde aufzeigen.

Bei Anwendung eines Fließmittelsystems aus n-Butanol, Alkohol und Base wird mit zunehmend hydrophilem Charakter der mobilen Phase die Desorption verbessert, d.h. der Rf-Wert erhöht. Die Differenzierung homologer Strukturen gelingt nur in einem schmalen, wenig hydrophilen Bereich des variierten Fließmittelsystems (Abb. 44, Chromatogramm 1a). Stärker hydrophile Fließmittel trennen nur Haupt-

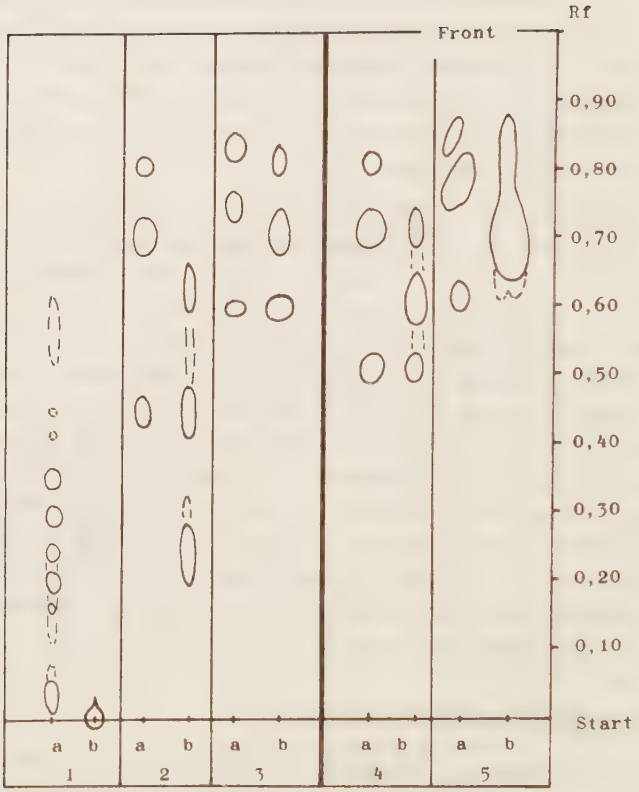


Abb. 44 Differenzierung von Polyäthylenglykol-Stearaten bei abnehmendem n-Butanolgehalt in der mobilen Phase n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 %
a) Polyäthylenglykol- 400-stearat
b) Polyäthylenglykol-4700-stearat

Verhältnis n-Butanol/Äthanol/Ammoniak 25 %:

1 : 85:10: 5
2 : 65:10:25
3 : 25:10:65
4 : 45:30:25
5 : 25:50:25

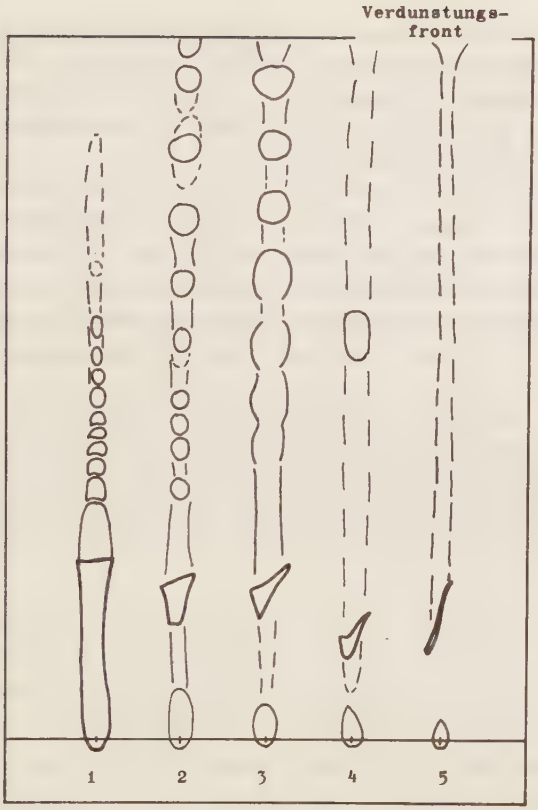


Abb. 45 Dünnschichtchromatographische Differenzierung von Polyäthylenglykol-Sorbitanestern (wassergesättigtes Äthylmethylketon; BN-Kammer; 3 Stunden)

1 : Polyäthylenglykol-900-sorbitanmonooleat
2 : Polyäthylenglykol-900-sorbitantrioleat
3 : Polyäthylenglykol-900-sorbitantristearat
4 : Polyäthylenglykol-180-sorbitanmonostearat
5 : Polyäthylenglykol-220-sorbitanmonooleat

gruppen von Tensidkomponenten (Abb. 44, Chromatogramm 2). Je nach Verbindungsklasse ergeben sich dabei charakteristische Fleckenverteilungen (Abb. 12). Bei weiterem Ansteigen der Polarität wird die Differenzierung zunehmend schlechter (Abb. 44, Chromatogramm 5).

Für die Auswahl eines geeigneten Fließmittelsystems kommt außerdem der Basizität und Konzentration der alkalischen Komponente Bedeutung zu (Abb. 44, Chromatogramm 3 und 5), da durch Neutralisation saurer Silanolgruppen die Sorptionskraft des Kieselgels beeinflußt werden kann (63).

Die Auswirkung unterschiedlicher physikalisch-chemischer Eigenschaften innerhalb einer Körperklasse von Tensiden geht aus Abb. 45 hervor. Hierbei zeigt sich, daß mit zunehmend hydrophobem Charakter der Hilfsstoffe der Trenneffekt von wassergesättigtem Äthylmethylketon abnimmt.

D. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht am Modell des Salicylsäurephenylesters den Mechanismus einer Lösungsvermittlung hydrophober Arzneistoffe durch polyäthylenglykolhaltige Tenside und den Einfluß des Mizellbildners auf die Esterhydrolyse. Die komplexe Zusammensetzung der verwendeten Hilfsstoffe wird mit Hilfe einfacher analytischer Methoden gekennzeichnet. Die Untersuchungen führen zu den folgenden Ergebnissen:

1. Die Beziehungen zwischen dem Solubilisationsvermögen gegenüber Salicylsäurephenylester und dem amphiphilen Aufbau der Tensidmoleküle beweisen eine Einlagerung hydrophober Arzneistoffe in den Kohlenwasserstoffkern der Mizelle.

2. Die Lokalisation des solubilisierten Salicylsäurephenylesters im Mizellkern kann unabhängig davon durch den Nachweis spezifischer Lösungsmitteleffekte im UV-Spektrum von Salicylsäurephenylester erfolgen.

   Nach den spektralen Befunden kommt der Wechselwirkung zwischen phenolischen Gruppen und Polyätherstrukturen im vorliegenden Falle nur untergeordnete Bedeutung zu.

3. Eine Stabilisierung des hydrophoben Esters ist mit anionischen und nichtionogenen Tensiden möglich. Dabei sind anionische Netzer wirksamere Stabilisatoren. Kationische Mizellbildner bewirken keine Verzögerung der Esterhydrolyse.

4. Die Zersetzungsgeschwindigkeit des solubilisierten Salicylsäurephenylesters bei Normaltemperatur wird

mit Hilfe beschleunigter Stabilitätsversuche ermittelt. Die Halbwertszeit beträgt bei pH 7 (20°C) drei Jahre, während der tensidfreie Ansatz schon nach zehn Tagen zu mehr als 50 % zersetzt ist.

5. Die quantitative Bestimmung von Salicylsäure in Gegenwart von Salicylsäurephenylester, Phenol und nichtionogenem Lösungsvermittler gelingt unter Anwendung einer dünnschichtchromatographischen Methode.

6. Die Kennzeichnung von verschiedenen Verbindungsklassen polyäthylenglykolhaltiger Tenside und von Polyäthylenglykolen erfolgt durch einfache dünnschichtchromatographische Analysen. Diese gestatten es, die komplexe Zusammensetzung handelsüblicher Derivate des Polyäthylenglykols zu differenzieren und ihren Nachweis in Arzneizubereitungen zu führen.

7. Zur Auftrennung von Gemischen homologer Polyäthylenglykol-Stearate eignet sich das Verfahren der zweidimensionalen Dünnschichtchromatographie. Der Nachweis der Einzelkomponenten wird über den enthaltenen Anteil an freiem Polyäthylenglykol geführt.

8. Unterschiede in der Hydrophilie von Polyäthylenglykolderivaten und homologen Polyäthylenglykolen lassen sich durch die spezifische Zusammensetzung der herangezogenen Fließmittelsysteme nachweisen.

E. Literaturverzeichnis

1. ANKER,L. und D.SONANINI, Pharmac.Acta Helvetiae 37, 360 (1962).
2. ATLAS-GOLDSCHMIDT AG, private Mitteilung.
3. BALABAN,L., Chem.Prumysl 15, 352 (1965).
4. BECHER,P., J.Colloid Sci. 16, 49 (1961).
5. BECHER,P., J.physic.Chem. 66, 374 (1962).
6. BEHME,M.T.A.,J.G.FULLINGTON,R.NOEL und E.H.CORDES,J.Amer.chem. Soc. 87, 266 (1965).
7. BERGNER,K.G. und H.SPERLICH, Z.Lebensmittel-Unters.u.-Forsch. 97, 253 (1953).
8. BEY,K.-H., Fette Seifen einschl.Anstrichmittel 67, 217 (1965); Tenside 2, 373 (1965).
9. BIRD,H.L.,jr.,H.F.BRICKLEY,J.P.COMER,P.E.HARTSAW und M.L. JOHNSON, Analytic.Chem. 35, 346 (1963).
10. BJAASTAD,S.G. und K.F.BROWN, Australas.J.Pharmacy 45, S 116 (1964).
11. BJAASTAD,S.G., N.A.HALL und A.L.THAKKAR, J.pharmac.Sci. 54, 1529 (1965).
12. BLAUG,S.M. und D.S.EBERSMAN, ebenda 53, 35 (1964).
13. BORECKY,J., Collect.czechoslov.chem.Commun. 30, 2549 (1965).
14. BRENNER,M. und A.NIEDERWIESER, Experientia (Basel) 17, 237 (1961).
15. BREUNINGER,W.B. und R.W.GOETTSCH, J.pharmac.Sci. 54, 1487 (1965).
16. BRUSTIER,V., D.VINCENT und G.BROUSSY, C.R.hebd.Séances Acad. Sci.251, 285 (1960).
17. BÜRGER,K., Z.analyt.Chem. 196, 259 (1963).
18. CAPELLA,P., Riv.ital.Sostanze grasse 38, 332 (1961).
19. CARLESS,J.E. und J.R.NIXON, J.Pharmacy Pharmacol.12, 348 (1960).
20. CORKILL,J.M., J.F.GOODMAN und R.H.OTTEWILL, Trans.Faraday Soc. 57, 1627 (1961).
21. COMER,J.P. und P.E.HARTSAW, J.pharmac.Sci. 54, 524 (1965).
22. CROOK,E.H., G.F.TREBBI und D.B.FORDYCE, J.physic.Chem.68, 3592 (1964).

23. DESMOND,C.T. und W.T.BORDEN, J.Amer.Oil Chemists' Soc. 41, 552 (1964).
24. DONBROW,M. und C.T.RHODES,J.chem.Soc.(London), Suppl.Issue 2, 1964, 6166.
25. DONBROW,M. und C.T.RHODES, J.Pharmacy Pharmacol. 18, 424 (1966).
26. GÄNSHIRT,H. und K.MORIANZ, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz. Ges. 293, 1066 (1960).
27. GARRETT,E.R., J.Amer.pharmac.Assoc.,sci.Ed.45, 171 (1956); J.pharmac.Sci.51, 445 (1962).
28. GAUTHIER,H. und G.MANGENEY,J.Chromatogr. 14, 209 (1964).
29. GINN,M.E.,C.L.CHURCH,jr. und J.C.HARRIS, Analytic.Chem.33, 143 (1961).
30. GOODHART, F.W. und A.N.MARTIN,J.pharmac.Sci.51,50 (1962).
31. GSTIRNER, F. und A.B.JAGTAB, Mitt.dtsch.pharmaz.Ges.32, 65 (1962).
32. HAIS,I.M. und K.MACEK, Handbuch der Papierchromatographie, Jena 1958.
33. HURWITZ,A.R.,P.P.DELUCA und H.B.KOSTENBAUDER, J.pharmac. Sci.52, 893 (1963).
34. ISAK,H., Dissertation Univ.München 1963.
35. JENSEN,E.H. und D.J.LAMB, J.pharmac.Sci. 53, 402 (1964).
36. KHAWAM,M.N., R.TAWASHI und H.v.CZETSCH-LINDENWALD, Scientia pharmac.33, 90 (1965).
37. KLEIN,P.D., Analytic.Chem. 34, 733 (1962).
38. KLIFFMÜLLER,R., Dtsch.Lebensmittel-Rdsch. 54, 59 (1958).
39. KLOUWEN,M.H. und R.ter HEIDE, Parfümerie u.Kosmet. 43, 195 (1962).
40. KLOUWEN,M.H., R.ter HEIDE und J.G.J.KOK, Fette Seifen einschl.Anstrichmittel 65, 414 (1963).
41. KOHLSCHÜTTER,H.W.,A.RISCH,K.UNGER und K.VOGEL, Z.Elektrochem., Ber.Bunsenges.physik.Chem. 69, 849 (1965).
42. KOSOWER,E.M. und G.-S.WU,J.Amer.chem.Soc.83, 3142 (1961).
43. KRASNEC,L., Acta Fac.pharmac.Bohemoslovenicae 11,7 (1965).

44. KRÖLLER,E., Fette Seifen einschl.Anstrichmittel 65, 482 (1963).
45. KRÖLLER,E., ebenda 66, 583 (1964).
46. KURIYAMA,K., Kolloid-Z. 180, 55 (1961).
47. LACHMAN,L., Bull.Parenteral Drug Assoc. 13, 8 (1959).
48. LANGE,H., Vorträge Orig.fass.III.Intern.Kongr.grenzflächenakt.Stoffe, Köln 1960, Sekt.A, 279.
49. LEUENBERGER,C., Dissertation Bern 1959.
50. LÖSER,G., Seifen-Oele-Fette-Wachse 91, 728 (1965).
51. MANKOWICH,A.M., J.Colloid Sci. 14, 131 (1959).
52. MAYHEW,R.L. und R.C.HYATT, J.Amer.Oil Chemists' Soc. 29, 357 (1952).
53. MC BAIN,M.E.L. und E.HUTCHINSON, Solubilization and related phenomena, New York 1955.
54. MITCHELL,A.G., J.Pharmacy Pharmacol. 15, 761 (1963); 16, 43 (1964).
55. MITCHELL,A.G. und K.F.BROWN, ebenda 18, 115 (1966).
56. MITCHELL,A.G. und L.S.C.WAN, J.pharmac. Sci. 53, 1467 (1964).
57. MITCHELL,A.G. und L.S.C.WAN, ebenda 54, 699 (1965).
58. MÜLLER,K., Tenside 3, 37 (1966).
59. MÜNZEL,K., Dtsch.Apotheker-Ztg. 101, 29, 78 (1961).
60. MULLEY,B.A. und A.D.METCALF, J.Pharmacy Pharmacol. 8, 774 (1956).
61. MULLEY,B.A. und A.D.METCALF, J.Colloid Sci. 17, 523 (1962).
62. MULLEY,B.A. und A.D.METCALF, ebenda 19, 501 (1964).
63. MUNTER,F., Chem.Techn. 15, 244 (1963); Chemiker-Ztg./Chem. Apparatur 87, 656 (1963).
64. NAKAGAWA,T., K.KURIYAMA und H.INOUE, J.Colloid Sci. 15, 268 (1960).
65. NAKAGAWA,T. und I.NAKATA, J.chem.Soc.Japan,ind.Chem.Sect. 59, 710 (1956).
66. NAKAGAWA,T. und I.NAKATA, ebenda 59, 1154 (1956).
67. NOGAMI,H., S.AWAZU und N.NAKAJIMA, Chem.pharmac.Bull.(Tokyo) 10, 503 (1962).
68. NOGAMI,H., S.AWAZU, K.WATANABE und K.SATO, ebenda 8, 1136 (1960).
69. OBRUBA,K., Collect.czechoslov.chem.Commun. 27, 2968 (1962).

70. OEHME,F., Chemiker-Ztg./Chem.Apparatur 88, 657 (1964).
71. O'MALLEY,W.J., L.PENNATI und A.N.MARTIN, J.Amer.pharmac. Assoc.,sci.Ed. 47, 334 (1958).
72. PANCRAZIO,G. und M.VITALI, Farmaco (Pavia), Ed.prat. 15, 34 (1960).
73. PASTUSKA,G. und H.-J.PETROWITZ, Chemiker-Ztg./Chem.Apparatur 86, 311 (1962).
74. PATEL,N.K. und N.E.FOSS, J.pharmac.Sci. 54, 1495 (1965).
75. PETROWITZ,H.-J., Erdöl Kohle-Erdgas-Petrochem. 14, 923 (1961).
76. POLAND,D.C. und H.A.SCHERAGA, J.physic.Chem. 69, 2431 (1965).
77. POLLERBERG,J. und E.HEINERTH, Vorträge Orig.fass.III.Intern. Kongr.grenzflächenakt.Stoffe,Köln 1960, Sekt.C, 89.
78. RIEGELMAN,S., J.Amer.pharmac.Assoc.,sci.Ed. 49, 339 (1960).
79. RIEGELMAN,S., N.A.ALLAWALA, M.K.HRENOFF und L.A.STRAIT, J.Colloid Sci. 13, 208 (1958).
80. ROSENBERG,H.M. und D.HALE, J.physic.Chem. 69, 2490 (1965).
81. SASAKI,H., H.OKUYAMA und S.SAITO, Bull.chem.Soc.Japan 29, 752 (1956).
82. SCHÖNFELDT,N., Oberflächenaktive Anlagerungsprodukte des Äthylenoxyds,Stuttgart 1959.
83. SCHOFIELD,P.J., B.J.RALPH und J.H.GREEN, J.physic.Chem. 68, 472 (1964).
84. SCHOTT,H., ebenda 68, 3612 (1964).
85. SEELY,G.R. und R.G.JENSEN, Spectrochim.Acta 21, 1835 (1965).
86. SEHER,A., Fette Seifen einschl.Anstrichmittel 63, 617 (1961).
86a. SPRINGER,R. und R.LANG, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 299, 841 (1966).
87. SUCKER,H., Dtsch.Apotheker-Ztg. 104, 727 (1964).
88. SWARBRICK,J. und J.E.CARLESS, J.Pharmacy Pharmacol. 16, 596 (1964).
89. THOMA,K., E.ULLMANN und G.ZELFEL, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch. pharmaz.Ges. 295, 670 (1962).
90. TISCHBIREK,G., Vorträge Orig.fass.III.Intern.Kongr.grenzflächenakt.Stoffe,Köln 1960, Sekt.A, 126.

91. TOKIWA,F., Bull.chem.Soc.Japan 36, 222 (1963).
92. TONG,L.K.J., R.L.REEVES und R.W.ANDRUS, J.physic.Chem. 69, 2357 (1965).
93. ULLMANN,E. und H.KASSALITZKY, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch. pharmaz.Ges. 295, 37 (1962).
94. ULLMANN,E., K.THOMA und G.ZELFEL, Pharmac.Acta Helvetiae 38, 577 (1963).
95. UNGNADE,H.E., E.M.ROBERTS und L.W.KISSINGER, J.physic.Chem. 68, 3225 (1964).
96. VIDAL-PARUTA,M.R. und L.D.KING, J.pharmac.Sci. 53, 1217 (1964).
97. VOGT,H. und R.DILLMANN, Pharmaz.Ind. 28, 146 (1966).
98. WETTERAU,F.P., V.L.OLSANSKI, C.F.SMULLIN und J.D.BRANDNER, J.Amer.Oil Chemists' Soc. 41, 383 (1964).
99. WEXLER,A.S., Analytic.Chem. 35, 1936 (1963).
100. WREN,J.J., J.Chromatogr. 4, 173 (1960).

Lebenslauf

Hermann Erich Rüdiger Rombach	geboren am 20.12.1937 in Offenburg/Baden als Sohn des Rechtsanwaltes Dr.jur.Wolfram Rombach und seiner Ehefrau Dr.med.Hildegard geb.Neff
Schulbildung:	1944-1947 Volksschule, Ehingen/Donau 1947-1956 Humanistisches Gymnasium, Ehingen/Donau
Reifeprüfung:	21.2.1956 in Ehingen/Donau
Berufsausbildung:	
Pharmazeutisches Praktikum:	1956-1957 Apotheke des Städt.Katharinenhospitals, Stuttgart 1957-1958 Hof-Apotheke, Stuttgart
Pharmazeutisches Vorexamen:	14.3.1958 in Stuttgart
Studium der Pharmazie:	SS 1958 bis SS 1961, Universität München
Pharmazeutisches Staatsexamen:	23.11.1961 in München
Kandidatenzeit:	Dezember 1961 mit April 1962 und August 1962, Löwen-Apotheke, Ehingen/Donau
Bestallung als Apotheker:	6.12.1962, München
Wissenschaftliche Arbeit:	Mai 1962 bis März 1966 unter der Leitung von Frau Professorin Dr.E.ULLMANN am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München, Direktor: Professor Dr.Dr.h.c.E.BAMANN
Berufliche Tätigkeit:	seit 1.10.1962 Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München, Direktor: Professor Dr.Dr.h.c.E.BAMANN